VERSUCHE ÜBER DIE BILDUNG VON GLYKOGEN IN HEFEZELLEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HEINRICH ALTHAUS
aus Bretzwil (Baselland)

Liestal 1950 – Buchdruckerei Lüdin AG.

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren

Dr. Max Geiger-Huber
Dr. Otto Schüepp

Basel, den 10. Januar 1950.

Der Dekan: Prof. Dr. *Robert Wizinger*

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Separatabdruck aus:
„Tätigkeitsberichte der Naturforschenden Gesellschaft Baselland" 1950, Band 18
(Als Sonderdruck ausgegeben am 1. November 1950)

III. Wissenschaftliche Arbeiten

Versuche über die Bildung von Glykogen in Hefezellen

von HEINRICH ALTHAUS

(Aus der Botanischen Anstalt der Universität Basel)

Inhalt

Seite

Einleitung 99
Methodisches 101
I. Prinzip der Methode 101
II. Das Versuchsobjekt 102
III. Durchführung der Versuche 103
IV. Einfluss physiologisch extremer Temperaturen 109
Über die physiologische Bedeutung des Hefeglykogens 112
Experimentelle Ergebnisse 114
I. Einfluss von Temperatur und Glukosekonzentration auf die Glykogenbildung 114
II. Dichte der Hefesuspension und Glykogenbildung 127
III. Die Glykogenbildung nach Zugabe verschiedener Zuckerarten 129
IV. Einfluss von Abbauprodukten des Kohlehydratstoffwechsels auf die Glykogenbildung 134
V. Energetische Vorgänge in der Zelle und Glykogenbildung 135
VI. Versuche über den Einfluss von Ionen und Wirkstoffen auf die Glykogenbildung 145
Allgemeine Betrachtungen 148
Zusammenfassung der Ergebnisse 150
Zitierte Literatur 153

Einleitung

Die Physiologen haben der Bildung und Mobilisierung der Reservestoffe im pflanzlichen und tierischen Organismus von jeher grosse Aufmerksamkeit geschenkt; denn dank dieser Fähigkeit vermögen die Organismen in Zeiten günstiger Ernährungsbedingungen mehr Nährstoffe, also Energie, aufzunehmen, als sie momentan bedürfen, sie geeignet zu speichern, um sie dann später bei Bedarf wieder in den Stoffwechsel ein-

zubeziehen. Durch diese Fähigkeit gewinnt der Organismus grössere Unabhängigkeit gegenüber der Umwelt, er vermehrt seine Lebensmöglichkeit. Es ist daher interessant und wichtig, die Bildung von Reservestoffen zu verfolgen und zu untersuchen, wie diese von den verschiedenen Bedingungen abhängt.

Damit solche Versuche gelingen, ist einheitliches und leicht zugängliches Zellmaterial nötig; besonders günstig wären Zellsuspensionen, da dort jede Zelle mit dem Milieu direkt in Verbindung steht. Diese Bedingungen werden zum Beispiel von Hefezellen weitgehend erfüllt: Hefezellen sind jederzeit und in genügender Menge erhältlich; die Nahrung kann direkt und in der gewünschten Konzentration geboten werden. RUBNER (1912) schreibt z. B.: „Die Nahrung liegt in den Medien gelöst vor, sie (die Zellen) schwimmen in diesen Medien selbst". Zudem lassen sich leicht gleichmässige Suspensionen herstellen. Dies veranlasste auch MUSFELD (1942), seine Versuche über die Zuckeraufnahme von Zellen an Hefe durchzuführen; er stellte dabei fest, dass die Aufnahme des Zuckers eine ausgesprochene Abhängigkeit von den Bedingungen des Milieus zeigt. Um eine Antwort auf die Frage zu erhalten, was mit dem aufgenommenen Zucker, der den momentanen Energiebedarf der Zelle übersteigt, geschehe, untersuchte er die Zellen auch auf ihren Glykogengehalt und kam zum Ergebnis, dass der aufgenommene Zucker offenbar zum grössten Teil in Glykogen umgewandelt wird; „wenigstens lassen die daraufhin untersuchten Zellen schon 5 bis 10 Minuten nach Glukosezugabe mikroskopisch bereits Glykogenbildung erkennen, obwohl die Anfangsglukosekonzentration nur 0,5% betrug".

Aus dem Studium der Literatur geht hervor, dass über Glykogen, vor allem auch über das Glykogen der Hefezellen, schon viel gearbeitet worden ist, sei es in seiner Eigenschaft als Reservestoff (ERRERA 1885; CLAUTRIAU 1895; HARDEN und YOUNG 1902; ZIKES 1911; RUBNER 1912; EULER 1914; STIER, NEWTON and SPRINCE 1939), in seiner Beziehung zur alkoholischen Gärung (MEISSNER-DESSAU 1900; CREMER 1902; GRÜSS 1903 und 1904; KOHL 1908; LUNDIN 1923; WERTHEIMER 1930 und 1934; BRÜCKE 1933; WILLSTÄTTER und ROHDEWALD 1937) oder im Zusammenhang mit Versuchen über Nährstoffaufnahme (ERRERA 1882; LAURENT 1890; KOCH und HOSAEUS 1894; CREMER 1894; PAVY und BYWATERS 1908). Über die quantitativen Beziehungen zwischen der Geschwindigkeit der Glykogenbildung und den äussern Bedingungen, erhält man jedoch wenig und nur ungenügende Auskunft. Diese Tatsache und die genannte Beobachtung von MUSFELD (1942) gaben Anlass, diese Frage an Hefen speziell zu untersuchen.

Methodisches

I. Prinzip der Methode

Da die Versuchsverhältnisse nur dann klar und definiert sind, wenn alle Zellen gleichzeitig von der vollen Nährlösung umspült werden, so ist für die vorliegende Untersuchung Gewebe nicht geeignet, sondern nur eine Zellsuspension. Die Methode der chemischen Bestimmung des Glykogens kann nicht angewendet werden, weil diese relativ viel Material, d. h. grosse Gäransätze, verlangt und zudem so lange Zeit zur Bestimmung erfordert, dass die Verfolgung der Glykogenbildung in kurzen Zeitintervallen praktisch unmöglich wird.

Dagegen besteht die Möglichkeit, die einfache und zeitsparende, allerdings eigentlich qualitative Methode des Glykogennachweises mit Jodlösung in eine quantitative umzuwandeln, indem man von glykogenfreien Zellen ausgeht, in geeigneten Zeitabständen mikroskopisch verfolgt, wann jeweils in ihnen erste Glykogenbildung auftritt, und diese Beobachtungen statistisch auswertet.

Praktisch besteht die Methode darin, dass man glykogenfreie Hefezellen in Wasser suspendiert, Zucker oder ein anderes Substrat der Glykogenbildung zugibt, in geeigneten Zeitabständen nach der Substratzugabe Proben entnimmt, an den Hefezellen die Jodreaktion ausführt und die glykogenhaltigen Zellen zählt. Die Zeit zwischen Substratzugabe und dem Zeitpunkt, in dem 50% der Zellen Glykogen zeigen (Halbwertszeit), kann als Mass für die Geschwindigkeit der Glykogenbildung gelten.

Nur durch Zufall wird gerade in dem Augenblick untersucht, wo genau 50% aller Zellen Glykogen gebildet haben. Deshalb muss die Methode so gehandhabt werden, dass man bald nach Versuchsbeginn (Zugabe des Substrates) mit dem Auszählen beginnt und diese Auszählung in geeigneten Zeitabständen fortsetzt, bis ungefähr alle Zellen Glykogen gebildet haben oder mindestens die Halbwertszeit überschritten ist. Trägt man diese Werte in Abhängigkeit von der Zeit auf, so erhält man eine S-Kurve, die auch für den Fall, dass man nicht genau im Zeitpunkt untersuchte, wo 50% der Hefezellen Glykogenbildung aufweisen, diesen Zeitpunkt (Halbwertszeit) graphisch gut zu bestimmen gestattet. Diese Methode der Bestimmung der Halbwertszeit ist zudem deshalb besonders geeignet, weil die übrigen Messwerte eines Versuchs bei der Bestimmung ja auch mitberücksichtigt werden (s. Abb. 1 und Besprechung), so dass die Genauigkeit, mit der die Halbwertszeit im Einzelversuch auf diese Weise bestimmt wird, durchschnittlich etwa 2,5% beträgt.

II. Das Versuchsobjekt

Für sämtliche Versuche wurde Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae* HANSEN) benützt, weil sie als Versuchsobjekt die bereits erwähnten wichtigen Vorteile gewährt und die Bedingungen erfüllt, die ich für meinen speziellen Fall stellen musste, nämlich: Der Zustand der Glykogenbildung soll mit Hilfe der Jodreaktion leicht und schnell erkennbar sein. Da die Bäckerhefe entweder glykogenfrei ist oder nur soviel Glykogen enthält, dass sie durch einfache und kurze Vorbehandlung (Selbstgärung) versuchsbereit gemacht werden kann, ist es möglich, selbst kleinste neugebildete Mengen an Glykogen durch geeignete Ausführung der Jodprobe zu erkennen.

Anfänglich wurde die Hefe von einer Bäckerei in Basel bezogen, doch zeigte sich bald, dass diese Hefe infolge ungleichen Alters und Aufbewahrung unter ungleichen äussern Bedingungen, sich für meine Versuche nicht eignete. Diese Feststellung entspricht den Angaben von ERRERA (1885) und CLAUTRIAU (1895), welche Autoren auf die Zusammenhänge zwischen Alter, Zustand und Glykogenspeicherung bzw. auf die bessere Färbbarkeit junger Zellen mit Jod hingewiesen haben. Durch Vermittlung einer Bäckerei meines Wohnortes konnte ich, je nach Bedarf, Hefe direkt von der Fabrik[1]) beziehen, womit dafür gesorgt war, dass für meine Versuche nur Hefe in frischestem Zustande Verwendung fand. Die Zeit zwischen dem Versand ab Fabrik und dem Herstellen der Suspension betrug im allgemeinen etwa 6 bis 8 Stunden. Hiezu wurde eine bestimmte, aus dem innern Teil der Hefemasse stammende Menge abgewogen, gewaschen, in Aqua dest. suspendiert und hierauf kräftig geschüttelt. Infolge des frischen Zustandes der Hefe enthielten ihre Zellen stets geringe Mengen von Glykogen. Die gleiche Feststellung machte auch BRANDT (1941–42), der schreibt: „In der Presshefe finden sich mehr oder weniger grosse Mengen von Glykogen, je nach den Nahrungsbedingungen und dem physiologischen Zustand der Hefe". Deshalb wurde die Hefesuspension 2 Stunden im Thermostat (ca. 28° C) und nachher, durchschnittlich etwa 14 Stunden, bei Zimmertemperatur (ca. 20° C) stehen gelassen (BUCHNER und MITSCHERLICH 1904). Während dieser Zeit wird das gespeicherte Glykogen durch Selbstgärung der Hefe (CREMER 1894, LINTNER 1899, BUCHNER und MITSCHERLICH 1904, KOHL 1908, EULER und LINDNER 1915, BRANDT 1941–42) restlos verbraucht, was sich nach Jodzusatz an einer goldgelben Färbung des Zellinhaltes zeigt. CREMER (1894) schreibt z. B.: „Überlässt man die Hefe

[1]) KLIPFEL E. & Co., Rheinfelden.

der Selbstgärung, so verschwindet die Fähigkeit, sich rot-braun zu färben". Auch HARDEN und YOUNG (1902) nehmen als Substrat der Selbstgärung Glykogen an[2]). Während der verhältnismässig langen Zeit der Selbstgärung ist der Hefe auch Gelegenheit geboten, sich dem neuen Milieu anzupassen. Diese Anpassung ist zur Erzielung geeigneten Ausgangsmaterials unerlässlich, da sich nach WARBURG (1927) der Stoffwechsel vieler Heferassen beim Übergang vom natürlichen Milieu zu einfachen Substraten ganz erheblich ändern kann.

Die zum Versuche gelangenden Hefesuspensionen wurden vor Versuchsbeginn wie folgt geprüft:

1. Zur Feststellung der Suspendierbarkeit wurde kontrolliert, ob sich die Zellen in der Versuchsflüssigkeit gleichmässig verteilen.
2. Die Anzahl toter Zellen wurde nach MUSFELD (1942, S. 585) mit einer frisch hergestellten Lösung von Methylenblau im Verdünnungsverhältnis 1:10000 ermittelt. Der Anteil toter Zellen war stets kleiner als 1%, im Durchschnitt etwa 0,5%.
3. Der Nachweis des Glykogens erfolgte mit einer von H. WILL angegebenen Jodlösung: 20 g KJ, 7 g Jod, 100 cm³ Aqua dest. (MUSFELD 1942, S. 585)[3]). Da die Hefe nicht sofort nach dem Herstellen der Suspension verwendet wurde, war sie bei Versuchsbeginn stets glykogenfrei.
4. In Bezug auf das Alter der Zellen ist die Gegenwart von Zellen aller möglichen Entwicklungsstadien wichtig (BRANDT 1941–42). Eine einigermassen homogene Zusammensetzung der Suspension ist Voraussetzung für die Erreichung einer minimalen Streuung der Versuchswerte. Es zeigte sich zum Beispiel, dass sehr junge Zellen für die Glykogenspeicherung längere Zeit beanspruchen als Zellen von mittlerem Alter; sehr alte Zellen dagegen speichern das Glykogen rascher als Zellen mittleren Alters.

III. Durchführung der Versuche

Die verwendete Hefe muss in der Versuchsflüssigkeit unter konstanten Temperaturbedingungen gründlich geschüttelt werden. Dies geschieht mit einer einfachen Schüttelapparatur (100 Doppelschwingungen pro Minute bei einer Amplitude von 3,5 cm), die sich in einem Wasserbad bewegt; dieses fasst ein Arbeitsvolumen von ca. 40 Liter Wasser. Die Temperaturregelung geschieht durch ein Regulierthermometer, das die Heizeinrichtung steuert und bei Versuchstemperaturen unter Zimmertemperatur wird mit Eisstücken reguliert; die Schwankungen blieben innerhalb $^1/_5{}^0$ C.

---

[2]) Ob die Angabe von PAVY und BYWATERS (1908), dass die chemische Bestimmung des Glykogengehaltes von käuflicher Hefe, auch bei schwach gelblicher Färbung nach Jodzusatz, einen Wert von 4 bis 6% ergibt, richtig ist, kann ich nicht entscheiden.

[3]) Bei dieser Gelegenheit mache ich auf einen Druckfehler in der Arbeit von MUSFELD (1942, S. 585) aufmerksam: Anstelle von 20 g Jod soll es heissen 7 g Jod (EULER und LINDNER, 1915, Anm. 4, S. 59).

Die Bildung des Glykogens wurde mikroskopisch festgestellt, nachdem die Zellen mit der Jodlösung getötet und gefärbt worden waren. Nach MEISSNER-DESSAU (1900) ist das Gelingen der Jodreaktion mittels Jodlösung in erster Linie davon abhängig, ob die Zelle durch die Jodlösung getötet wird. In Vorversuchen strebte ich noch darnach, den Zustand der Glykogenbildung genauer zu definieren. Es zeigte sich aber bald, dass der Versuch, verschiedene Stufen zu unterscheiden, allzu subjektiv ausfiel und sich für meine Untersuchung nicht eignete. In der Folge wurde daher nur noch zwischen Zellen ohne und Zellen mit Glykogen unterschieden, was sich als bedeutend vorteilhafter erwies.

Durch entsprechendes Regulieren der Blende des Mikroskopes wurde versucht, die kleinste eben noch erkennbare Glykogenmenge festzustellen, was mir nach einiger Übung mit verhältnismässig grosser Sicherheit gelang. Zum Beobachten wurde ein Mikroskop „Reichert", Trockenobjektiv 60×, Okular „Zeiss" K. 12, 15× verwendet. Im Innern des Okulars wurde ein rundes Deckgläschen mit Tuschering von 5 mm Durchmesser angebracht, um das Gesichtsfeld abzugrenzen. Ein kleineres Gesichtsfeld ermöglicht ein genaueres Auszählen und besseres Unterscheiden zwischen Zellen ohne und mit Glykogen. Als Lichtquelle diente eine geeignete Mikroskopierlampe mit zwei Blaufiltern. Das so filtrierte Licht wurde auf den Planspiegel des Mikroskopes und von dort durch die $^1/_1$ bis $^2/_3$ offen gehaltene Blende auf das Objekt geworfen, und zwar, was sich als wichtig erwies, nach dem Köhlerschen Beleuchtungsprinzip. Da in Vorversuchen Ölimmersionsobjektive oder auch Phasenkontrasteinrichtung keine Vorteile zeigten und zudem umständlicher sind, wurden sie bei den Hauptversuchen nicht angewendet.

Um den Verlauf der Glykogenbildung festzustellen, wurden nach einer geeignet festgelegten Zeitskala mit einem Glasstab Proben der Hefesuspension auf vorbereitete Objektträger gebracht und die Zellen sofort mit einem kleinen Tropfen Jodlösung getötet[4]). Die zwischen der Probeentnahme und dem Abtöten entstandene Zeitdifferenz gegenüber der Zeitskala betrug allerhöchstens ±5 Sekunden. Die Präparate konnten nicht immer unmittelbar nach der Probeentnahme mikroskopisch untersucht werden, weshalb sie bis zur Beobachtung unter einer Glasglocke, in mit Wasserdampf gesättigter Luft, aufbewahrt wurden; dadurch liess sich das Verdunsten der Versuchsflüssigkeit, nicht aber die Sublimation des Jods aus der Jodlösung verhindern. Es

[4]) In Vorversuchen wurden die verschiedensten Substanzen auf ihre Eignung, die Hefezellen günstig abzutöten, untersucht, so z. B. Sublimat, OsO_4, Phenol, Merfen; keiner der untersuchten Stoffe zeigte Vorteile gegenüber der Jodlösung.

musste deshalb vor dem Mikroskopieren noch einmal etwas Jodlösung zugegeben werden. Da nach ZIKES (1911) und auch nach meiner Feststellung, zu starke Lösungen von Jodjodkali auch andere Zellanteile braun färben, wurde, um eine optimale Färbung des Glykogens zu erhalten, so viel Jodlösung zugegeben, dass das Verhältnis zwischen der Jodjodkalilösung und der auf dem Objektträger befindlichen Versuchslösung etwa 1:25 war. Eine zu kleine Jodzugabe ergibt eine zu blasse Färbung des Glykogens; kleinste Glykogenmengen sind dann kaum oder nicht erkennbar. Andererseits vermindert eine zu starke Jodbeigabe die Kontrastwirkung zwischen dem gefärbten Glykogen und dem umgebenden Protoplasma der Zelle (s. ZIKES 1911). Ältere und auch etwa runde Zellen zeigen, auch wenn sie kein Glykogen enthalten, oft Jodspeicherung, die vom Unerfahrenen leicht als Glykogenreaktion gedeutet werden kann. Hat man sich aber mit dem Objekt genügend vertraut gemacht, so fällt das Unterscheiden zwischen Glykogenfärbung und der durch Jodspeicherung des Protoplasmas hervorgerufenen Färbung nicht schwer.

Es wurden von jedem Präparat die Zellen von 21 Gesichtsfeldern (gleichmässig in 3 Kolonnen zu 7 Zeilen angeordnet) ausgezählt und dabei, wie bereits erwähnt, zwischen Zellen ohne und mit Glykogen unterschieden. Zellen, die nur so vage Andeutungen von Glykogenfärbung aufwiesen, dass die Glykogenbildung zweifelhaft schien, wurden zu den Zellen ohne Glykogen gezählt. Diese Methode der Unterscheidung und des Auszählens liefert Ergebnisse, die unter sich vergleichbar sind. Durch entsprechendes Verschieben des Präparates wurde darauf geachtet, dass jedes Gesichtsfeld nur einmal ausgezählt wurde. Im allgemeinen betrug die Anzahl der ausgezählten Zellen eines Präparates etwa 150 bis 250, je nach der Hefesuspensionsdichte.

Als Mass für die Geschwindigkeit der Glykogenbildung wurde der reziproke Wert der Halbwertszeit gewählt: Halbwertszeit ist die Zeitspanne zwischen der Zugabe des glykogenbildenden Substrates und dem Zeitpunkt, wo 50% aller beobachteten Zellen Glykogen enthalten. Man hätte selbstverständlich als Endpunkt eine andere Prozentzahl wählen können; da aber die Glykogenbildung innerhalb der Population nach einer, allerdings nicht immer symmetrischen, S-Kurve verläuft, ist es naheliegend, als Mass einen Wert zu wählen, der auf dem „linearen" Verbindungsstück der beiden Kurvenkrümmungen liegt. Die Erfahrung im Laufe der Untersuchungen lehrte, dass in diesem Bereiche die Streuung der Versuchswerte am kleinsten ist.

Um ein Bild vom Gang der Versuche zu geben, sei z. B. Versuch Nr. 45 im einzelnen wiedergegeben:

1. Tag:

Hefe: Von frisch gekaufter Hefe wird 1 g, aus dem innern Teil der Hefemasse stammend, abgewogen.

Suspendieren und Zentrifugieren: Die abgewogene Hefemenge wird in kleiner Glasschale unter Zugabe von ca. 1 cm^3 Aqua dest. mit Glasstab gründlich (ohne Druck) zerrieben. Der so entstandene Hefebrei wird bei mehrmaligem Nachspülen in die Zentrifugiergläschen gegossen und einmal 5 Minuten bei 3300 Touren zentrifugiert. Hierauf wird die Waschflüssigkeit abgegossen, frisches Aqua dest. hinzugefügt, unter kräftigem Schütteln suspendiert und ein zweites Mal 5 Minuten lang zentrifugiert. Die Waschflüssigkeit wird wieder abgegossen und die zentrifugierte Hefemenge bei sukzessivem Zugeben von 500 cm^3 Aqua dest. und kräftigem Schütteln suspendiert.

Erste Probe auf Glykogen: Spuren von Glykogen.

In Thermostat: 28° C, von 17.30 bis 07.30 Uhr, zur Selbstgärung.

Zucker: Glukose purissimum pro infusione Merck, Siegfried.

Einwage: Versuchsgefäss a: 62½ mg/50 cm^3 Aq. dest.
Versuchsgefäss b: 6,250 g/50 cm^3 Aq. dest.
Versuchsgefäss c: 5,0 g/20 cm^3 Aq. dest.
Versuchsgefäss d: 3,750 g/10 cm^3 Aq. dest.

Erhitzen dieser Glukoselösungen zur raschen Einstellung des Gleichgewichtes zwischen der α- und β-Form (Mutarotation).

Bereitstellen der Objektträger: Für die vier Glukosekonzentrationen a–d; Anschreiben der Zeitskalen.

Bereitstellen des Mikroskopes und Einstellen der Lampe.

Bereitstellen der Versuchsgefässe:

4 Erlenmeyerkolben à 50 cm^3 für die Hefesuspensionen
4 Erlenmeyerkolben à 100 cm^3 für die Versuchsflüssigkeiten (Hefe + Zucker)
1 Erlenmeyerkolben à 100 cm^3 für die Temperaturkontrolle innerhalb d. Gefässes.

2. Tag:

Zweite Probe auf Glykogen: negativ.

Probe auf tote Zellen (mit Methylenblau 1:10000):

Auf 350 Zellen	1 tote Zelle
Auf 100 Zellen	0 tote Zellen
Auf 70 Zellen	0 tote Zellen
Auf 210 Zellen	1 tote Zelle
Auf 70 Zellen	0 tote Zellen
Auf 800 Zellen	2 tote Zellen = 0,25%

Einstellen der Versuchstemperatur im Wasserbad: 30° C.

Vorwärmen der Versuchsgefässe im Wasserbad.

Pipettieren der Glukoselösungen: Von den Lösungen a–d werden je 8 cm^3 in vorgewärmte Erlenmeyerkolben à 100 cm^3 pipettiert.

Pipettieren der Hefesuspension: viermal 12 cm^3 à $2‰$ in je einen Erlenmeyerkolben à 50 cm^3; 20 cm^3 in einen Erlenmeyerkolben à 100 cm^3 zur Kontrolle der Temperatur innerhalb des Gefässes; die Erlenmeyerkolben sind vorgewärmt.

Beginn der Temperatureinwirkung: 08.45 Uhr. Es werden die Kolben mit den pipettierten Flüssigkeiten im Schüttler befestigt, wieder ins Wasserbad gestellt und geschüttelt.

Zusammengiessen von Hefesuspension und Glukoselösung:

Glukosekonzentration a 09.00 Uhr
Glukosekonzentration b 09.00 Uhr + ½ Minute
Glukosekonzentration c 09.00 Uhr + 1 Minute
Glukosekonzentration d 09.00 Uhr + 1½ Minuten

Probeentnahmen: Gemäss der Zeittabelle (Tabelle 1). Sofort abtöten mit Jod und aufbewahren unter den Glasglocken.

Beobachten mit dem Mikroskop und Eintragen ins Protokoll.

Versuchswerte: Siehe Tabelle 1 und Abb. 1.

Tabelle 1

Versuch Nr. 45: Zeitlicher Verlauf der Glykogenbildung in einer Population suspendierter Hefezellen bei Zugabe verschiedener Glukosekonzentrationen; Temperatur 30° C; Hefesuspensionsdichte 1,2‰.

Zeit nach Glukosezugabe Minuten	Anzahl Zellen mit Glykogen	Anzahl Zellen ohne Glykogen	Total der ausgezählten Zellen	Zellen mit Glykogen %
Glukosekonzentration a = 0,05%				
2	0	alle	ca. 200	0
4	22	156	178	12
6	106	108	214	50
8	117	38	155	75
10	163	29	192	85
12	alle	0	ca. 200	100
Glukosekonzentration b = 5%				
4	0	alle	ca. 200	0
6	22	197	219	10
8	57	126	183	31
10	122	112	234	52
12	190	28	218	87
14	alle	0	ca. 220	100
Glukosekonzentration c = 10%				
14	0	alle	ca. 200	0
17	58	145	203	28
20	87	86	173	50
24	116	28	144	80
29	188	18	206	91
35	alle	0	ca. 200	100
Glukosekonzentration d = 15%				
20	0	alle	ca. 200	0
24	38	158	196	19
29	98	65	163	60
35	84	19	103	81
42	237	23	260	91
50	alle	0	ca. 200	100

Aus Abb. 1 ist ersichtlich, dass die kurvenmässige Darstellung der Glykogenbildung einer Hefepopulation in Abhängigkeit von der Zeit S-Kurven ergibt. Die Halbwertszeiten ermitteln sich graphisch für die einzelnen Zuckerkonzentrationen zu: 6,4; 9,4; 19,9 und 27,8 Minuten. Im allgemeinen ist die Kurve nicht symmetrisch, sondern verläuft im ersten Teil steiler als im letzten; das Zwischenstück verläuft meistens gerade. Daraus ergibt sich: Die Glykogenbildung in der Population wird anfänglich zunehmend beschleunigt, verläuft eine Zeitlang annähernd linear, um alsdann verzögert zu werden. Die Ursache dieses Verhaltens liegt in der Zusammensetzung

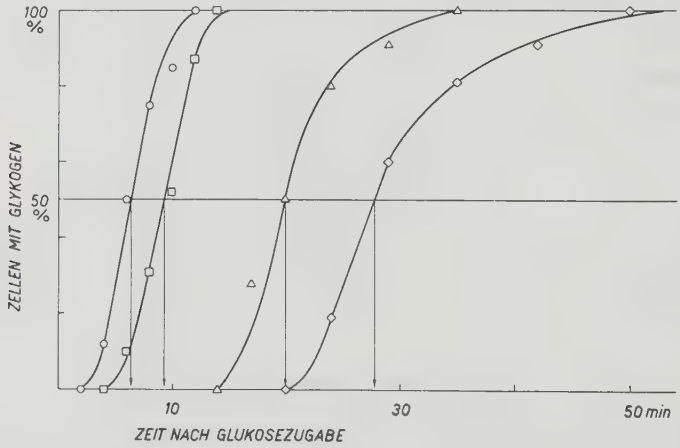

Abb. 1. Versuch Nr. 45: Zeitlicher Verlauf der Glykogenbildung in einer Population suspendierter Hefezellen bei Zugabe verschiedener Glukosekonzentrationen. Temperatur 30° C; Hefesuspensionsdichte 1,2‰.
Glukosekonzentrationen: ○—○ 0,05%
□—□ 5,0 %
△—△ 10,0 %
◇—◇ 15,0 %
↓ Halbwertszeiten

der Population aus Hefezellen mit individuellen Unterschieden in der Glykogenbildung; die verschiedene Steilheit des Kurvenverlaufes ist dabei ein Mass für die Grösse der individuellen Unterschiede (Streuung). Neben Zellen mit viel Glykogen, kann man oft gleichzeitig solche mit wenig und gar solche mit keinem Glykogen beobachten. Diese Feststellung stimmt mit der Beobachtung von Zikes (1911) überein, wonach „In ein und derselben Kultur einer Hefe einzelne Zellen und auch manche Sprossverbände keine, andere eine sehr deutliche Glykogenreaktion geben". Der flachere Verlauf des Kurvenendes beruht auch auf der Zusammensetzung der Population und auf dem individuellen

Verhalten der einzelnen Zellen, das bei extremen Versuchsbedingungen offenbar noch gesteigert ist. Im Bereich extremer Temperaturen und Zuckerkonzentrationen verläuft nämlich die zweite Krümmung noch flacher. Es wurde deshalb auf gleiche Einwirkungszeiten der Versuchstemperaturen ganz besonders geachtet.

IV. Einfluss physiologisch extremer Temperaturen

Um den Einfluss einer physiologisch extremen Temperatur auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung darzustellen, sei Versuch Nr. 65 angeführt:

Tabelle 2.

Versuch Nr. 65: Verlauf der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Zeit nach Glukosezugabe; Temperatur 42° C; Hefesuspensionsdichte 1,2‰.

Minuten	8	10	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	Halbwertszeit
Glukose																	
%	%															%	Min.
0,05				0	3	13	23	37	48	55	68	60	58	50	42	44	36,0
0,5	0	4	14	21	32	30	36	52	56	57	68	72	72	88	100		27,0
5,0		0	5	15	22	30	40	49	60	—	71	71	80	93	97	100	29,5
15,0			0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	

Aus obigen Werten ergibt sich, dass die Glykogenbildung in der Population bis ungefähr zur Halbwertszeit normal verläuft, nachher aber deutlich verlangsamt wird. Bei der Glukosekonzentration 0,05% erfolgt sogar eine Abnahme des gespeicherten Glykogens. Da es sich hier um eine sehr niedrige Glukosekonzentration handelt, kann diese Abnahme aus zwei Tatsachen resultieren: Aus der Verminderung der Glukosekonzentration in der Versuchsflüssigkeit und aus dem Verbrauch des gespeicherten Glykogens durch Dissimilationsvorgänge. Bei den Konzentrationen 0,5 und 5% beruht aber die Abnahme der Geschwindigkeit der Glykogenbildung nach der Halbwertszeit bestimmt nicht auf der Abnahme der Glukosekonzentration im Suspensionsmilieu oder auf dem Verbrauch durch die Dissimilation, sondern einzig auf der Temperaturwirkung, deren offenbar schädigendem Einfluss die extrem langsamen Glykogenbildner unter den Hefezellen ja entsprechend lang ausgesetzt waren. Wie nämlich Zuckerbestimmungen am Ende des Versuches ergeben haben, ist die Konzentrationsabnahme in dieser kurzen Versuchszeit unwesentlich, zudem liegen diese beiden Konzentrationen im Bereich des Optimums.

Bei der Glukosekonzentration 15% fand sich nur hie und da eine Zelle mit Glykogen; der Grund liegt im kombinierten Einfluss von hoher Temperatur und hoher Glukosekonzentration, was dadurch bestätigt wird, dass bei niedrigeren Temperaturen normale Glykogenbildung stattfindet.

Die von Zikes (1911) und mir gemachte Feststellung, wonach bei extremen Temperaturen, neben Zellen mit keinem oder wenig, solche mit auffallend viel Glykogen (grosse Ballen) vorkommen, lässt sich bei physiologisch normalen Temperaturen nur äusserst selten feststellen.

Obiger Versuch zeigt, dass bei physiologisch hohen Temperaturen die Zellen einer Population sich hinsichtlich der Glykogenbildung nicht gleichmässig und auch anders verhalten als bei niedrigeren Temperaturen, obwohl die Zahl der toten Zellen durch den Versuch nicht erhöht wurde.

Ausser auf das glykogenbildende Fermentsystem hat extrem hohe Temperatur auch einen Einfluss auf den Lebenszustand der Hefe-

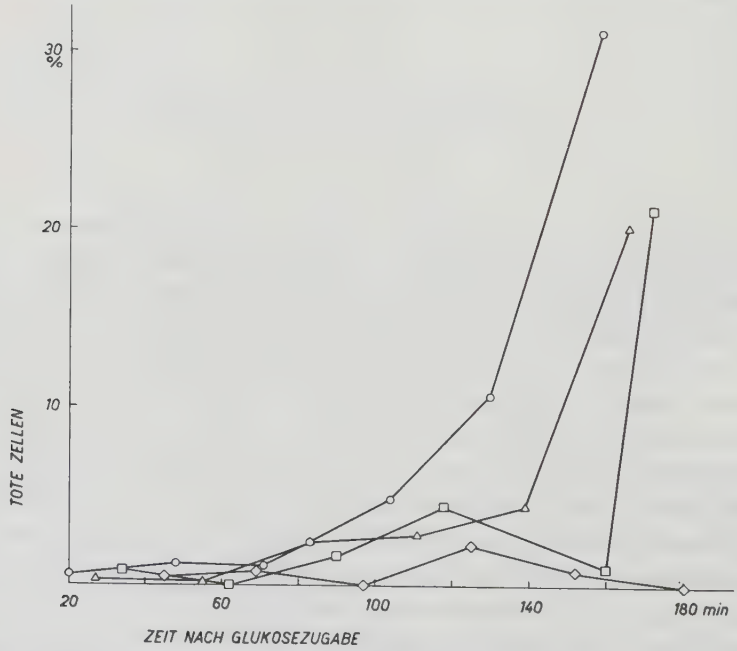

Abb. 2. Todesrate der Hefezellen bei hoher Temperatur (45° C). Hefesuspensionsdichte 1,2‰.
Glukosekonzentrationen: ○——○ 4,0%
△——△ 6,0%
□——□ 10,0%
◇——◇ 20,0%

zelle[5]). So wurden in Versuch Nr. 60 mit der Temperatur 45° C nach bestimmten Zeitintervallen die mit der Methylenblauprobe erkannten, toten Zellen ausgezählt (Abb. 2) und gleichzeitig die Jodprobe ausgeführt; es konnte in keinem Falle Glykogenbildung festgestellt werden. Wie aus Abb. 2 hervorgeht, ist die Schädigung bei niedrigeren Konzentrationen grösser als bei höheren; es scheint, dass hohe Zuckerkonzentrationen auf die Hefezellen konservierend wirken, möglicherweise durch Herabsetzung des Quellungsgrades des Protoplasmas, wodurch dieses ja erfahrungsgemäss gegen äussere Einflüsse widerstandsfähiger wird.

Neben toten Zellen konnten auch deformierte Zellen mit unregelmässig gewellter Membran beobachtet werden. Die durch Auszählen

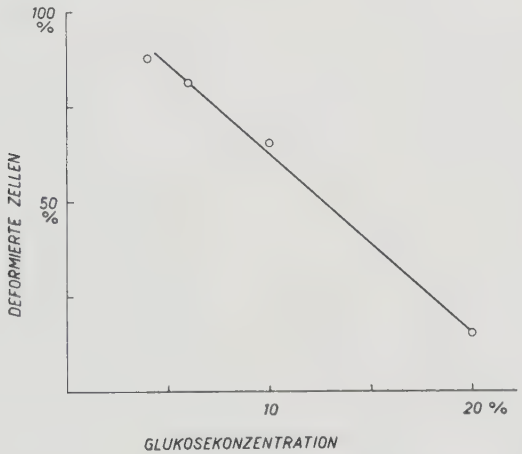

Abb. 3. Versuch Nr. 60: Einfluss der Glukosekonzentration auf die Deformation der Hefezellen bei hoher Temperatur (45° C). Hefesuspensionsdichte 1,2‰. Zeit der Beobachtung: 200 Minuten nach der Glukosezugabe.

der deformierten Zellen erhaltenen Werte sind in Abb. 3 dargestellt; auch hier scheinen hohe Glukosekonzentrationen der Deformation entgegenzuwirken. Welche Rolle dabei Glukosekonzentration, osmotischer Wert und Temperatur spielen, kann hier nicht erörtert werden, da hiezu weitere Versuche nötig wären; festgehalten sei lediglich, dass selbst bei niedrigsten Temperaturen keine ähnliche Beobachtung gemacht wurde.

[5]) Nach Kohl (1908) kann Hefe in nährstoffreichen Lösungen hohe Temperaturen (bis 35° C) ohne Schaden ertragen. Auch Hansen (1911) schreibt: „Die Hefezelle ist relativ unempfindlich für höhere Temperaturen".

Über die physiologische Bedeutung des Hefeglykogens

Das im Jahre 1857 von CLAUDE BERNARD in der Säugetierleber entdeckte Glykogen wurde im Jahre 1882 von ERRERA in der Hefezelle gefunden und damit sein Vorkommen im Pflanzenreich zum ersten Mal nachgewiesen. In diesem Zusammenhange seien folgende charakteristische Äusserungen dieses Autors hervorgehoben: „Le glycogène ou ‚l'amidon animal' n'existe pas seulement chez les animaux, où Claude Bernard l'a découvert, et chez les protistes, où il a été signalé d'abord par Kühne: on le trouve aussi chez les plantes. – . . . , notre analyse paraît établir que la levure renferme du glycogène typique, en quantité variable sans doute d'après l'état de nutrition des individus" (ERRERA 1882). Nach ihm ist das Glykogen das erste Assimilationsprodukt der Pilze und ersetzt somit bei diesen vollständig die Stärke der übrigen Pflanzen (ERRERA 1882, 1885, 1886, 1887, 1890). LAURENT (1890) dehnte die Fragestellung von ERRERA aus, indem er die Glykogenbildung in Gegenwart verschiedener Stoffe untersuchte; nach ihm wurde Glykogen gebildet aus: Glykogen, Dextrin, Mannit, Maltose, Saccharose, Galaktose, Dextrose, Glycerin. Den Glykogengehalt der Hefe bestimmte er zu ungefähr 30% des Trockengewichtes. Im Gegensatz dazu stehen die Versuche von KOCH und HOSAEUS (1894), welche der Hefe Glykogen aus Kaninchenleber, Kalbsleber und Presshefe darboten; sie konnten dabei weder Glykogenbildung, Vermehrung, noch Gärung beobachten. CREMER (1894) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zum Ergebnis, dass das Hefeglykogen sich nicht wesentlich vom tierischen unterscheidet[6]). Er betrachtet das Glykogen in Übereinstimmung mit ERRERA und LAURENT als ein Anhydrid des Traubenzuckers. CLAUTRIAU (1895) hat das Glykogen bei Pilzen chemisch untersucht; nach ihm ist das Glykogen bei Pilzen, Hefe und Tieren dasselbe, wenn auch kleine Unterschiede in der Jodreaktion festzustellen sind.

Als transitorischer Reservestoff wird das Glykogen von MEISSNER-DESSAU (1900), KOHL (1908), LUNDIN (1923) betrachtet. Nach KOHL (1908) ist das Glykogen ein wichtiges Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung: „Es wäre nicht ausgeschlossen, dass erst das Glykogen zu Traubenzucker und Isomaltose abgebaut, der Spaltung in Alkohol und Kohlensäure durch Zymase unterliegt, dass also die Hexosen nicht direkt, sondern immer über das Glykogen hinweg verarbeitet werden". LUNDIN (1923) stellt in seinen Versuchen über den Einfluss des Sauerstoffs auf die assimilatorische und dissimilatorische Tätigkeit der Hefe fest, dass sowohl bei Sauerstoffzufuhr, als auch ohne diese, die Hefe ein schnelles und vollständiges Verschwinden des Zuckers aus der Versuchflüssigkeit bewirkt. Dabei soll der Zucker nicht direkt, sondern über Alkohol als Zwischenprodukt zu Glykogen gespeichert werden.

Zahlreiche Arbeiten liegen über das Glykogen als Reservestoff vor. Schon ERRERA (1885) schreibt: „Ce glycogène représente pour elle (la levure de bière) une réserve hydrocarbonée, qu'elle consommera plus tard pour sa croissance, sa multiplication, sa respiration, etc., exactement comme les plantes supérieures utilisent l'amidon". Nach LAURENT (1890) wird es in der Hefe bei günstiger Ernährung in grossen Mengen angehäuft, in der gleichen Weise, wie von höhern Pflanzen die Stärke. Nach CLAUTRIAU (1895) wird Glykogen als Reservestoff bei grossem Wachstum und bei der Sporenreife von Pilzen verbraucht. HARDEN und YOUNG (1902) zeigen, dass Glykogen die hauptsächlichste Kohlehydratreserve der Hefe ist. ZIKES (1911) schreibt: „Zusammenfassend kann man sagen, dass, wenn Zucker die einzige Kohlenstoffquelle ist und eine geeignete Stickstoffnahrung zur Verfügung steht, eine Assimilation der betreffenden Zuckerarten zu Leibes- und Reservesubstanzen der Hefe konstatiert worden

---

[6]) In diesem Zusammenhange sei auf folgende Literatur, die besonders das tierische Glykogen behandelt, hingewiesen: PFLÜGER (1903); LOESCHCKE (1904); PFRINGSHEIM u. WILL (1928); ANNUAL REVIEW OF PHYSIOLOGY: Bd. 1, S. 277, 1939; Bd. 4, S. 98 u. 487, 1942; Bd. 5, S. 302, 1943; Bd. 7, S. 143, 1945; Bd. 9, S. 430, 1947.

ist". Nach Euler (1914) kann der aufgenommene Zucker zur Synthese notwendiger Zellbestandteile des Plasmas, usw. verwendet werden, . . . „Weiter wird zeitweise der Zucker bzw. das Kohlenstoffmaterial als Reservestoff in Form von Glykogen gespeichert, . . .". Brandt (1941–42): „Bei günstiger Nahrungszufuhr von z. B. Glukose werden im Plasma grosse Mengen von Glykogen aufgespeichert". Stier, Newton and Sprince (1939) kommen zum Schluss, dass die Gewichtszunahme der Hefe nach Zugabe von Glukose auf der Speicherung von synthetisierten Stoffen, hauptsächlich Glykogen, innerhalb der Zellen beruht.

Zahlreiche Arbeiten existieren über die Beziehung des Glykogens zur alkoholischen Gärung; spricht doch Cremer (1902) geradezu von glykogenen Gärungen, da bei ihnen eine reichliche Anhäufung von Glykogen den Gärungsvorgang begleitet. Meissner-Dessau (1900) vertritt ebenfalls die Ansicht von einem Parallelismus zwischen Glykogenbildung und Gärung; er schreibt: „Man muss sich den Vorgang des Auftretens und Verschwindens des Glykogens so vorstellen, dass, je nachdem die Neubildung des Glykogens die Zerstörung desselben überwiegt oder nicht, es zu einer nachweisbaren Ansammlung bzw. zu einem Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle kommt. Der letztere Fall tritt dann ein, wenn nur noch geringe Mengen von Zucker in der gärenden Flüssigkeit vorhanden sind und wenn der Zucker daraus infolge der Zymasewirkung vollständig verschwunden ist". Grüss (1904; Zitat Kohl 1908, S. 53) hält das Glykogen in seiner Gärungstheorie für einen Reservestoff, der für die Atmung in Luft und für die Gärung in Abwesenheit von Luft bestimmt ist. Die Ansicht, es bestehe eine Beziehung zwischen Gärung und Synthesefähigkeit, vertritt auch Wertheimer (1930): „Zunächst zeigte sich nämlich, dass nur jene Zucker verschwinden, die auch synthetisiert werden und auch vergären. Langsam vergärende Substrate verschwinden langsamer, und die Synthese braucht längere Zeit". Eine weitere Vertiefung der Theorie brachten Willstätter und Rohdewald (1937), wie aus folgenden Worten ersichtlich ist: „Die Umwandlung des Kohlehydrats verläuft nicht nach Meyerhof in einer Entstehung von Kohlehydratphosphorsäure, sondern die Gesamtmenge des Zuckers wird unter Verlust des Reduktionsvermögens von der Hefe aufgenommen. Er wird in der einleitenden Reaktion der Gärungen einverdichtet". Nach Brücke (1933) nimmt die Glykogenbildungsfähigkeit mit der Gärung ab und der bei der Gärung sich bildende Alkohol ist bezüglich seiner Glykogenbildungsfähigkeit der Glukose ebenso unterlegen wie der von aussen zugefügte (s. Lundin 1923). Goda (1938) zeigt, dass frische Bierhefe bei Zusatz von Glukose eine kurze Induktionsperiode der Gärung mit gleichzeitiger Speicherung von Glykogen aufweist. Dagegen zeigt lange gelagerte Bierhefe und Bäckerhefe eine geringe oder keine Induktionsperiode und keine Speicherung von Glykogen. Er nimmt an (im Gegensatz zu Willstätter und Rohdewald, 1937), dass die Glukose beide Male direkt vergoren wird und dass in der älteren Hefe die zusätzliche Speicherung des Glykogens in Wegfall kommt.

Physikalisch-chemisch untersucht wurde das Glykogen von Ciautriau (1895); Cremer (1894, 1902); Voit (1891) nimmt die Theorie der Anhydridbildung an: Glykogen entsteht aus Kohlehydraten (Traubenzucker) unter Abspaltung von Wasser. Nach Herzog und Jancke (1920) ist das Glykogen der Stärke chemisch sehr nahe verwandt; über weitere chemische Eigenschaften des Glykogens s. Meyer (1943, S. 109 ff.). Stockhausen und Silbereisen (1936) erbringen den Nachweis, dass Hefegummi und Glykogen in der Hefe auf Grund ihres spezifischen Drehungsvermögens und der bei der Hydrolyse gebildeten Glukosemenge identisch sind.

Über die Beziehungen zwischen der Zeit und der Glykogenbildung schreibt Laurent (1890): „Trois heures après l'introduction de la levure dans le moût sucré, il existe déjà dans les cellules du glycogène en assez grand quantité". In Versuchen, die er mit 10%iger Saccharoselösung und bei 28° C ausführte, fand er nach 5 Stunden eine sehr deutliche Glykogenreaktion; nach 22 Stunden: „ . . . il y a énormément de glycogène dans le dépôt"; nach 101 Stunden erwies sich der Glykogengehalt als vermindert.

Clautriau (1895), welcher 12%ige Saccharoselösung bei 30° C auf Hefezellen einwirken liess, stellt fest, dass der maximale Glykogengehalt etwa nach 5 Stunden erreicht ist und dass er während 5 bis 6 Stunden unverändert bleibt. Pavy und Bywaters (1908) untersuchten die Glykogenbildung mit 10%iger Dextroselösung bei 35° C quantitativ: In einer ersten Versuchsserie stieg der Glykogengehalt in 2½ Stunden von 4,84 auf 11,66%. Letzteres war der höchste erreichte Wert. Nach 4 Stunden fiel der Glykogengehalt auf 9,33%; sie schreiben: „The results noted, show that first of all storage of the glycogen formed by the yeast cell takes place, and afterwards, presumably an exhaustion of the allotted amount of sugar is approached, application of the stored glycogen occurs for the maintenance of the cell operations carried out". Rubner (1912) fragt, was mit dem durch die Hefezelle aufgenommenen Zucker geschehe, und schreibt: „Es ist bekannt, dass die Hefe imstande ist, grössere Mengen von Glykogen aufzuspeichern; . . . Das Glykogen bleibt in der Hefe oft lange Zeit liegen und wird wohl zumeist nur bei Mangel an Zucker in der Nährflüssigkeit zur Zeit der Nachgärung verbraucht, . .". Willstätter und Rohdewald (1937) haben in ihren Forschungen mit Glukose und Maltose als weiteres Ergebnis erarbeitet, dass die Hefe rascher Glukose aufnimmt, als die Gärung einsetzt. Winzler und Baumberger (1938) kommen zur Feststellung, dass ein grosser Teil der Glukose, welche aus einer Suspension verschwindet, in der Zelle zu Kohlehydrat synthetisiert wird.

Experimentelle Ergebnisse

I. Einfluss von Temperatur und Glukosekonzentration auf die Glykogenbildung

Dass die Glykogenbildung bei niedrigeren Temperaturen langsamer verläuft als bei höheren, stellt schon Meissner-Dessau (1900) in seinen Parallelversuchen mit Objektträgerkulturen und mit im Bottich gärender Hefe fest. Auch Geiger-Huber und Musfeld (1942) beobachteten, dass bei 35° C die Glykogenbildung etwas rascher verläuft als bei 25° C. Cremer (1894) schreibt: „Bringt man Carenzhefe mit ziemlich konzentrierten (5–10%) Lösungen von Traubenzucker, Rohrzucker, Lävulose in Berührung, so tritt alsbald intensive Hefeglykogenreaktion auf. Bei Traubenzucker in 3 bis 4 Stunden". Nach Lindner (Zitat Zikes 1911) besteht das einfachste Mittel, eine Hefe reich an Glykogen zu machen darin, dass man sie 24 Stunden in einer 20%igen Glukose- oder Saccharoselösung liegen lässt. Wattier und Sternon (1942) schreiben: „Une culture de levure de moût de bière, agée de 24 à 48 heures, renferme des cellules riches en glycogène". Über den Einfluss der Zuckerkonzentration auf die Glykogenbildung berichten auch die Arbeiten von Laurent (1890), Pavy und Bywaters (1908), Winzler und Baumberger (1938), Stier (1939).

In den Tabellen 3–7 finden sich die zu bestimmten Zeiten ermittelten Werte der Glykogenbildung in der Population, dargestellt in Abhängigkeit von Temperatur und Glukosekonzentration. Die Hefe-

suspensionsdichte beträgt in allen Fällen 1,2‰. Weitere Spalten enthalten die Halbwertszeiten, deren Mittelwerte mit mittlerer Abweichung in Prozenten und die zugehörigen reziproken Werte; aus technischen Gründen sind alle reziproken Werte mit 1000 multipliziert[7]).

Verfolgt man die Versuchsergebnisse der verschiedenen Glukosekonzentrationen in Abhängigkeit von der Temperatur, so ergeben sich folgende Feststellungen:

a) Glukosekonzentration 0,05% (Tabelle 3): Hier verläuft die Glykogenbildung innerhalb der Population bei den Temperaturen 0° C bis 40° C normal; d. h. nach dem Typus der S-Kurve. Bei 42° C aber macht sich bereits ein schädigender Einfluss geltend, und zwar wie folgt: Sichtbare Schädigung tritt 45 Minuten nach Einwirkung der Versuchstemperatur oder 30 Minuten nach der Glukosezugabe ein. Nach dieser Zeit erfolgt die Zunahme der Glykogenbildung unregelmässig, und nach 65 Minuten Gesamteinwirkungszeit der Temperatur ist sogar eine Abnahme des Glykogengehaltes festzustellen. Die in diesem, schon auf Seite 109 besprochenen Versuche, 151 Minuten nach der Temperatureinwirkung ausgeführte Probe mit Methylenblau ergibt auf 198 Zellen nur 2 tote. Der Gehalt an toten Zellen steigt demnach von 0,1% bei Versuchsbeginn auf 1% bei Versuchsende, ein Unterschied, der auf die Versuchsergebnisse keinen wesentlichen Einfluss ausübt. Aus diesem Versuch geht hervor, dass diese Temperatur vor allem eine funktionelle Schädigung aller Zellen bewirkt und weniger einzelne Zellen tötet.

b) Glukosekonzentration 5% (Tabelle 4): Hier verläuft die Glykogenbildung nach dem üblichen S-Kurventypus. Bei 42° C macht sich nach 39 Minuten Einwirkungszeit ein hemmender Temperatureinfluss geltend, was auch dem viel flacheren Verlauf der zweiten Kurvenkrümmung entspricht. Die Verhältnisse liegen aber nicht gleich wie bei der Konzentration 0,05%, wo der Glykogengehalt nach einer bestimmten Zeit zu schwinden beginnt, sondern hier enthalten nach 120 Minuten alle Zellen der Suspension Glykogen. Der langsamere Verlauf der Glykogenbildung ist nicht auf ein Abnehmen der Glukosekonzentration im Suspensionsmilieu zurückzuführen, sondern auf den Einfluss der hohen Temperatur.

---

[7]) Um den Grad der Signifikanz zwischen den Mittelwerten zweier Beobachtungsgruppen beurteilen zu können, ist es nötig, ein Genauigkeitsmass anzugeben (ε), das zusammen mit der Zahl der Versuche (n) eine Beurteilung erlaubt; in Anlehnung an Fisher (1946) und Burn (1937, S. 21) ist $\varepsilon = \pm\sqrt{\frac{\Sigma\, d^2}{n(n-1)}}$ gewählt, wobei d die Abweichung des Einzelwertes vom Mittelwert bedeutet.

Tabelle 3.

Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Temperatur. Glukosekonzentration: 0,05%; Hefesuspensionsdichte 1,2‰.

Vers. Nr.	Min.	2	4	6	8	10	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	144	174	Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert des Mittelwertes
	Temp.	%																				%	Min.	Min.	%	
51	0° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	29	53	71	100	119	119	—	8,4
35	15° C	.	.	.	.	0	13	22	44	50	58	75	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	20			
36		.	.	.	.	0	21	16	27	36	50	70	80	100	.	.	.	.	.	.	.	.	23,8	21,9	8,7	45,6
37	20° C	.	0	9	15	40	55	77	81	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	11,2			
38		.	.	0	7	27	50	64	81	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	12,2	11,7	4,3	85,4
45	30° C	0	12	50	75	85	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,4			
46		0	7	38	77	91	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,4			
67		0	5	38	65	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,8	6,5	2,1	154
54	33° C	0	20	71	97	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	5,2			
57		0	5	35	63	92	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7,0	6,1	14,7	164
53	35° C	.	0	10	64	71	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,4			
58		0	8	40	71	95	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,6	7,5	12,0	133
55	37° C	0	16	80	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	5,0			
56		0	0	13	71	92	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7,4	6,2	19,3	161
32	40° C	0	9	22	84	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7,4			
34		.	0	17	53	75	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7,9			
52		.	0	8	37	73	83	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,6	8,0	4,3	125
65	42° C	.	.	.	.	.	.	0	3	13	23	37	48	55	68	60	58	50	42	44	.	.	36	36	—	27,7

Tabelle 4.

Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Temperatur. Glukosekonzentration 5%; Hefesuspensionsdichte: 1,2‰.

Vers. Nr.	Min.	2	4	6	8	10	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	144	174	Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert des Mittelwertes
	Temp.	%																				%	Min.	Min.	%	
51	0° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	13	35	63	85	100	111	111	—	9,1
48	10° C	.	.	.	.	.	.	.	.	0	11	18	44	60	79	84	100	.	.	.	.	.	38,6	38,6	—	25,9
35	15° C	.	.	.	.	0	5	17	17	20	44	54	75	85	100	.	.	.	.	.	.	.	25,6			
36		.	.	.	0	8	6	22	18	25	39	59	79	92	100	.	.	.	.	.	.	.	27,0	26,3	3,4	38
37	20° C	.	.	8	16	25	40	47	54	62	69	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	15,2			
38		.	.	0	0	9	14	37	40	64	84	91	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	17,4	16,3	6,7	61
45	30° C	.	0	10	31	52	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,4			
46		.	0	20	37	50	73	82	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,6			
68		.	0	22	44	57	74	93	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,0			
68		.	0	9	40	65	82	93	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,8			
68		.	0	14	40	64	84	95	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,8			
68		.	0	10	30	70	85	93	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,0	9,1	1,5	110
54	33° C	0	4	45	64	85	89	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,8			
57		0	0	2	15	45	74	92	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,3	8,6	20,9	116
53	35° C	.	0	12	33	51	75	84	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,6			
58		.	0	5	31	61	78	86	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,3	9,5	1,6	105
55	37° C	0	4	34	54	87	87	97	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7,4			
56		.	0	4	17	48	54	77	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,8	9,1	18,6	110
32	40° C	.	0	55	71	83	99	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,8			
33		.	0	4	42	72	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,8			
52		.	.	0	18	40	67	75	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,6	8,7	12,6	115
65	42° C	.	.	.	.	0	5	15	22	30	40	49	60	—	71	71	80	93	97	100	.	.	29,5	29,5	—	34

Tabelle 5.

Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Temperatur. Glukosekonzentration: 10%; Hefesuspensionsdichte: 1,2‰.

Vers. Nr.	Min.	8	10	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	144	174	Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert des Mittelwertes
	Temp.	%																	%	Min.	Min.	%	
48	10° C	.	.	.	.	.	.	.	.	0	8	7	14	16	25	56	55	81	100	107	107	—	9,3
44	15° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	8	41	71	90	100	.	.	76,0			
47		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	5	28	55	79	100	.	.	82,5	79,2	4,0	12,6
40	20° C	.	.	.	.	.	.	0	2	17	51	93	100	.	.	.	.	.	.	41,8			
41		.	.	.	.	.	0	3	15	43	68	84	100	.	.	.	.	.	.	37,0	39,4	6,1	25,0
28	25° C	.	.	.	0	4	28	35	60	89	100	.	.	.	.	.	.	.	.	27,2			
29		.	.	.	.	?	?	52	73	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	24,2	25,7	5,8	38,9
45	30° C	.	.	.	0	28	50	80	91	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	19,9			
46		.	.	0	8	23	46	65	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	21,0			
66		.	.	0	24	41	52	85	93	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	19,0	20,0	2,9	50,0
59	35° C	0	9	21	29	44	61	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18,0			
61		0	4	8	18	48	52	81	92	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18,8	18,4	2,2	54,3
42	40° C	12	21	35	46	51	60	86	83	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	16,5			
43		0	19	25	43	52	62	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	16,5			
62		.	.	0	5	20	28	39	41	61	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30,0			
63		.	.	.	0	10	20	33	45	63	80	.	.	.	.	.	.	.	.	31,2	23,5	17,3	42,5
64	42° C	.	.	.	.	.	.	.	0	4	14	37	27	32	66	51	48	55	.	80,0	80,0	—	12,5

Tabelle 6.

Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Temperatur. Glukosekonzentration: 15%; Hefesuspensionsdichte: 1,2‰.

Vers. Nr.	Min.	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	130	135	140	150	153	160	170	171	174	192	207	210	231	234	252	270	276	306	342	387	432	Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert d. Mittelwertes
	Temp.	%																																		%				%	
51	0° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	—	0	—	—	4	—	—	12	—	—	16	—	—	33	—	33	—	51	75	88	100	290				
49	10° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	0	—	—	9	—	—	—	—	—	44	61	—	71	84	—	89	—	100	.	.	.	.	182	182		3,4	
35	15° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	0	8	21	26	—	72	75	—	94	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	133				
36		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	6	31	53	—	61	73	—	92	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	129	131	1,5	7,6	
37	20° C	.	.	.	.	.	.	0	0	11	39	60	85	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	65,5				
38		.	.	.	.	.	.	.	0	7	22	65	93	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	68,6	66,7	1,8	15,0	
45	30° C	.	.	0	0	19	60	81	91	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	27,8				
46		.	.	.	0	6	20	80	95	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	32,5	30,1	7,6	33	
54	33° C	0	5	14	39	54	77	89	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	23,2				
57		0	0	10	16	37	62	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	26,4	24,8	6,4	40,0	
53	35° C	0	1	10	13	41	61	84	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	26,2				
58		.	.	0	9	34	47	84	89	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	28,6	27,4	4,4	36,5	
55	37° C	0	6	19	42	56	72	74	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	22,8				
56		.	.	0	3	18	28	42	62	74	97	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	37,0	29,9	23,7	33,4	
33	40° C	.	.	0	12	25	33	46	42	63	74	84	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	40.0				
34		.	0	7	7	21	20	42	21	36	70	82	84	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	47,0				
52		.	0	2	14	25	22	28	46	43	62	63	76	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	46,0	44,3	4,7	22,5	
65	42° C	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	∞	0			

Tabelle 7.

Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Temperatur. Glukosekonzentration: 20%; Hefesuspensionsdichte: 1,2‰.

Vers. Nr.	Min.	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	144	174	210	240	252	277	300	330	360	390	420	450	480	Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert des Mittelwertes
	Temp.	%																						%			%	
49	10° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	—	3	8	16	29	41	50	59	72	85	388	388	—	2,5
44	15° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	9	45	82	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	178			
47		.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	5	42	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	180	179	0,5	5,5
40	20° C	.	.	.	.	.	0	5	21	84	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	92,8			
41		.	.	.	.	.	0	21	47	94	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	85,0			
120		.	.	.	.	.	0	3	10	50	86	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	102	93,3	5,3	10,7
30	25° C	.	.	0	3	13	55	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	57,6			
31		.	.	.	0	7	46	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	59,0	58,3	1,2	17,1
118	30° C	.	0	2	14	76	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	47,0			
122		.	0	23	51	73	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	42,0	44,5	5,6	22,5
59	35° C	0	22	53	78	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34,4			
61		0	9	43	70	96	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	37,4	35,9	4,2	27,8
42	40° C	0	10	20	36	46	47	58	72	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	55,0			
43		0	5	14	20	41	62	76	84	93	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	58,4	56,7	3,0	17,6
62		.	.	0	4	10	12	14	24	31	40	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.				
63		.	0	10	23	24	33	33	33	42	38	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.				
119		.	0	5	11	14	18	22	36	46	33	34	41	20	—	5	—	6	.	.	.	.	.	.				
64	42° C	0	—	—	—	—	—	—	—	—	0	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	∞	0		

c) Glukosekonzentration 10% (Tabelle 5): Auffallend ist auch hier der unregelmässige Verlauf der Glykogenbildung bei 42° C, was auf den schädigenden Temperatureinfluss zurückzuführen ist.

d) Glukosekonzentrationen 15% und 20% (Tabellen 6 und 7): Bei diesen Konzentrationen fällt auf, dass schon bei 40° C nicht mehr alle Zellen der Suspension Glykogen bilden und dass bei 42° C praktisch die Glykogenbildung ausbleibt: Es finden sich bei 15% Glukose nur ab und zu Zellen mit Glykogen oder mit Andeutungen davon, während bei 20% keine Spur von Glykogenbildung festgestellt werden kann. Während in den Versuchen Nr. 42 und 43 (Tabelle 7) die Glykogenbildung normal verläuft (der Endwert von 100% ist nach 102 bzw. 120 Minuten erreicht), enthalten bei den Versuchen Nr. 62 und 63 nach 120 Minuten erst 40% bzw. 38% der Zellen Glykogen. Diese Unregel-

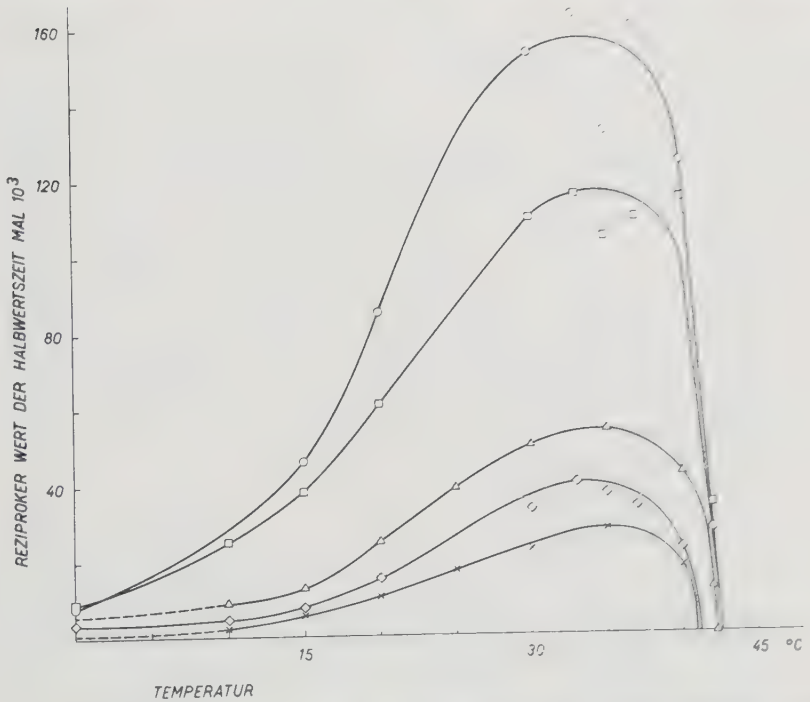

Abb. 4. Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung. Hefesuspensionsdichte 1,2‰.
Glukosekonzentrationen: ○——○ 0,05%
□——□ 5,0 %
△——△ 10,0 %
◇——◇ 15,0 %
×——× 20,0 %

mässigkeit ist verständlich, wenn man bedenkt, dass diese Versuchstemperatur schon nahe an der obern Grenze (ca. 41° C) liegt und auch bei der fabrikmässigen Herstellung der Hefe zweifellos Unterschiede in der Aufzucht nicht völlig zu vermeiden sind. Bei 42° C zeigt sich nach 240 Minuten keine Spur von Glykogenbildung.

In Abb. 4 sind die reziproken Werte der Halbwertszeiten der Versuche in Abhängigkeit von der Temperatur und der Glukosekonzentration dargestellt. Wie daraus hervorgeht, verläuft die Geschwindigkeit der Glykogenbildung nach Optimumkurven, die zudem infolge der Abhängigkeit von der Glukosekonzentration entsprechend verschieden liegen. Die Geschwindigkeit der Glykogenbildung nimmt von 0° C an beschleunigt zu, geht von ungefähr 30° C an allmählich ins Optimum über und nimmt von ungefähr 38° C an sehr rasch ab.

Beim nähern Betrachten der Kardinalpunkte ergeben sich folgende interessante Feststellungen:

1. Für das Minimum ist vor allem auffallend, dass die Geschwindigkeit bei 0° C nicht null ist. Schon Rubner (1912) weist an toluolisierter Hefe bei 0° C noch geringe Glykogenbildung nach. Er zieht daraus den Schluss, dass es sich um eine Fermentwirkung handelt, welche den Tod der Zelle überlebt. Extrapoliert man die Kurven der Abb. 4 graphisch, so dürfte die untere Temperaturgrenze der Glykogenbildung ungefähr bei —6 bis —8° C liegen; vermutlich ist auch sie, ähnlich wie die obere Temperaturgrenze, von der Glukosekonzentration abhängig. Der Tod der Zellen braucht auch bei diesen Temperaturen noch keineswegs einzutreten; auf alle Fälle sei festgehalten, dass die Zahl der toten Zellen bei Versuchen mit 0° C nie erhöht gefunden wurde.
2. Das Optimum liegt unabhängig von der Glukosekonzentration ungefähr bei 34° C.
3. Die Maxima hängen von der Glukosekonzentration ab, und zwar so, dass bei höherer Glukosekonzentration die Glykogenbildung eher aufhört als bei niedrigerer (siehe hiezu auch S. 124 ff). Es ergeben sich für die verschiedenen Glukosekonzentrationen etwa folgende Maxima:

Glukosekonzentration	0,05%	Maximum 42,5° C
Glukosekonzentration	5 %	Maximum 42,5° C
Glukosekonzentration	10 %	Maximum 42,2° C
Glukosekonzentration	15 %	Maximum 41,2° C
Glukosekonzentration	20 %	Maximum 40,8° C

Die aus den bisherigen Ausführungen ersichtliche Abhängigkeit der Glykogenbildung, sowohl von der Temperatur als auch von der Glukosekonzentration, lässt sich auch bei enger gewählten Intervallen der Glukosekonzentration erkennen (Tabelle 8).

Über die Verhältnisse bei extrem kleinen Glukosekonzentrationen orientieren Tabelle 9 und Abb. 5.

Bei der Glukosekonzentration 0,0025% zeigte sich bei den Temperaturen 0°, 10°, 20°, 30° und 40° C selbst nach 210 Minuten noch keine Glykogenbildung. Der aufgenommene Zucker wird hier offenbar durch die energieliefernden Reaktionen sofort verbraucht.

Bei der Glukosekonzentration 0,005% (Tabelle 9) enthalten bei 0° C nach 210 Minuten nur 19% aller Zellen Glykogen; der in diesem

Tabelle 8

Glykogenbildung in Abhängigkeit von Temperatur und mittleren Glukosekonzentrationen. Hefesuspensionsdichte: 1,2‰.

Glukose-Konzentration	0,5%		1%		4%		6%		8%	
	Halbwertszeit	Rez. Wert	Halbwertszeit	Rez. Wert	Halbwertszeit	Rez. Wert	Halbwertszeit	Rez. Wert	Halbwertszeit	Rez. Wert
Temp.	Min.		Min.		Min.		Min.		Min.	
0° C	104	9,6								
10° C			28,0	35	37,6	26	42,6	23		
15° C	20,6	48			21,6	46	36,2	27		
	20,6	48			19,0	52	32,2	31		
20° C							26,0	38	35,0	28
							22,0	45	29,6	33
25° C			8,0	125					20,2	49
			8,8	113						
30° C	6,8	147					9,7	103		
	7,0	143					9,8	102		
	7,0	143								
	7,5	133								
33° C	7,3	137								
35° C	8,0	125			8,6	116	9,0	111		
	6,2	161			9,2	108	9,6	104		
37° C	6,0	166								
	7,2	139								
40° C	7,2	139			7,5	133	8,5	117		
	8,8	113			7,5	133	8,2	122		
							11,3	88,5		
42° C	27,0	37			33,0	30	34,0	29		
45° C					∞	0	∞	0		

Versuche höchste Prozentsatz beträgt 27% und wird nach 174 Minuten erreicht. Diese Abnahme der Anzahl glykogenhaltiger Zellen kann auf einer Abnahme der Glukosekonzentration im Suspensionsmilieu und auf dem Verbrauch des gespeicherten Glykogens durch die dissimilatorischen Vorgänge beruhen. Der langsamere Verlauf der Glykogenbildung bei 20° C und eventuell bei 30° C gegenüber demjenigen bei 10° C dürfte durch den stärkern Glykogenverbrauch bewirkt werden, da Atmung und Gärung bei 20° C und 30° C grösser sind als bei 10° C (s. Abb. 9). In gleichem Sinne sind auch die Ergebnisse der Versuche bei 40° C zu deuten. In den Versuchen mit 40° C dürfte jedoch auch der schädigende Einfluss der hohen Temperatur zum Ausdruck kommen (siehe auch S. 109).

Bei der Glukosekonzentration 0,01% (Tabelle 9) fällt vor allem die Abnahme des Glykogengehaltes nach 35 Minuten bei der

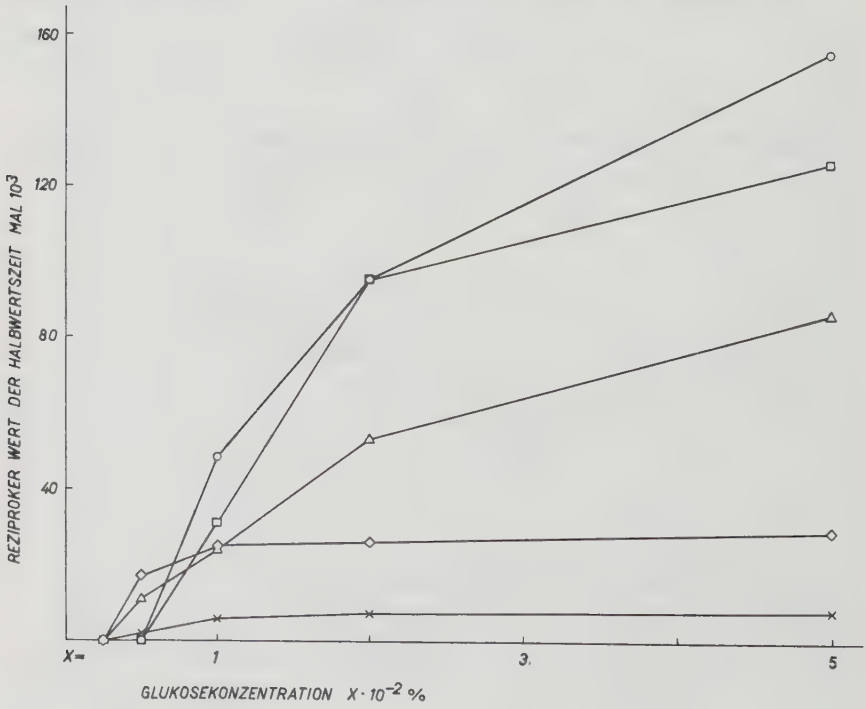

Abb. 5. Geschwindigkeit der Glykogenbildung in Abhängigkeit von minimalen Glukosekonzentrationen. Hefesuspensionsdichte 1,2‰.

Temperaturen: ×——× 0° C ○——○ 30° C
◇——◇ 10° C □——□ 40° C
△——△ 20° C

Tabelle 9.

Glykogenbildung in Abhängigkeit von Temperatur und minimalen Glukosekonzentrationen; Hefesuspensionsdichte: 1,2‰.

Vers. Nr.	Min.	4	6	8	10	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	144	174	210	Halbwertszeit	Rez. Wert Halbwertszeit
	Temp.	%																				%	Min.	
	Glukosekonzentration 0,005%:																							
110	0° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	4	11	14	27	19		
83	10° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	13	31	52	62	78	75	77	50	45	.	59,2	16,9
72	20° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	8	20	40	23	50	40	52	54	67	81	.	86,0	11,6
70	30° C	0	0	0	0	0	0	0	Andeutungen	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
69	40° C	0	0	0	0	0	hie und da eine Zelle mit Andeutung von Glykogen																	
	Glukosekonzentration 0,01%:																							
110	0° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	3	15	25	41	59	75	158	6,3
83	10° C	.	.	.	.	.	.	0	5	12	26	38	50	78	86	91	100	.	.	.	.	.	39,5	25,3
72	20° C	.	.	.	.	.	.	0	0	0	9	34	54	68	81	94	100	.	.	.	.	.	40,4	24,7
70	30° C	.	0	Andeutg.			24	33	55	50	70	73	88	90	96	.	.	.	.	.	.	.	20,5	48,7
69	40° C	.	.	.	0	7	16	19	37	37	45	53	48	—	47	.	.	.	.	.	.	.	32,0	31,2
	Glukosekonzentration 0,02%:																							
110	0° C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	5	22	43	57	81	100	130	7,7
83	10° C	.	.	.	.	.	.	0	5	15	30	40	55	80	–	100	.	.	.	.	.	.	38,0	26,3
72	20° C	.	.	.	0	3	12	16	62	80	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18,7	53,5
70	30° C	.	0	13	47	64	–	91	98	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,5	95,2
69	40° C	0	6	35	54	60	75	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,5	95,2

Temperatur 40° C auf, eine Feststellung, die wieder ähnlich erklärt werden muss, wie bei den Versuchen mit 0,005%.

Die Glukosekonzentration 0,02% (Tabelle 9) bewirkt gegenüber den kleineren Glukosekonzentrationen eine deutliche Beschleunigung der Glykogenbildung.

Zusammenfassend ergibt sich, dass bei minimalen Glukosekonzentrationen die Glykogenbildung ebenfalls temperaturabhängig ist. Stier (1939) vermutet, dass bei diesen niedrigsten Konzentrationen der Glukosegehalt zum begrenzenden Faktor für die Assimilation wird[8]).

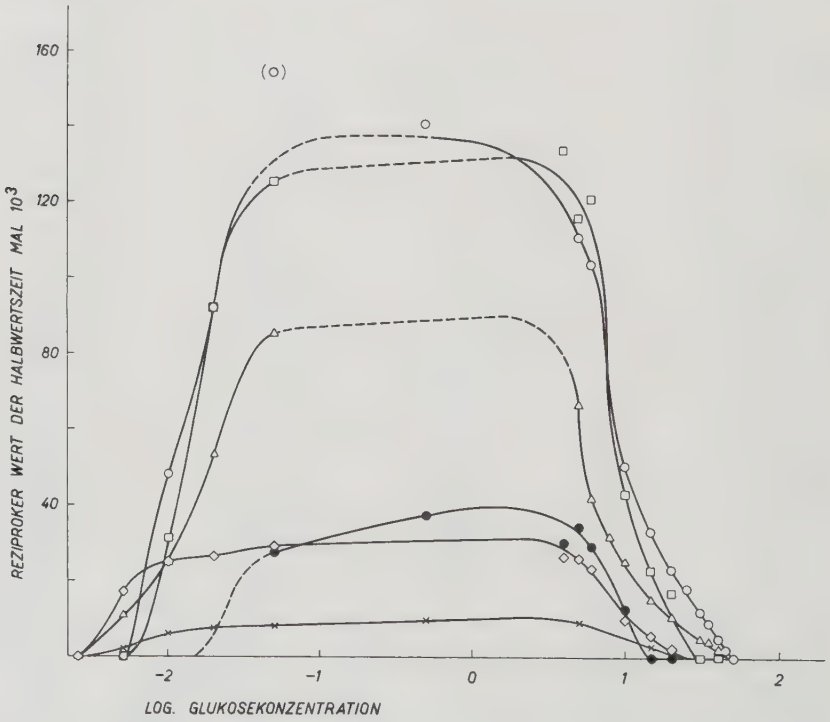

Abb. 6. Geschwindigkeit der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Glukosekonzentration. Hefesuspensionsdichte 1,2‰.

Temperaturen: ×——× 0° C ○——○ 30° C
◇——◇ 10° C □——□ 40° C
△——△ 20° C ●——● 42° C

[8]) Er führte seine Versuche bei 25° C und mit einer Hefesuspensionsdichte von 7–8% aus und findet bei einer anfänglichen Dextrosekonzentration von 15% nach 18 Stunden noch 0,02% Dextrose in der Suspensionsflüssigkeit. Er schreibt: „This is probably a limiting concentration of dextrose for assimilation".

Auch bei extrem hohen Glukosekonzentrationen ist die Glykogenbildung, ähnlich wie bei den niedrigsten, temperaturabhängig (Abb. 6).

Die für die Glykogenbildung optimalen Glukosekonzentrationen liegen zwischen 0,5% bis 2%.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Geschwindigkeit der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Glukosekonzentration (Abb. 5 und 6) von minimalen Konzentrationen bis zum Erreichen der Optima schnell zunimmt und nach dem Überschreiten der breiten Optima schneller und dann langsamer abnimmt; unterste und oberste Glukosekonzentrationsgrenze der Glykogenbildung sind temperaturabhängig.

II. Dichte der Hefesuspension und Glykogenbildung

Die Untersuchung von Musfeld (1942) über die Abhängigkeit der Glukoseaufnahme von der Hefesuspensionsdichte[9]) liess sich erweitern durch Versuche über die Geschwindigkeit der Glykogenbildung.

Aus Abb. 7 ist eine klare Abhängigkeit ersichtlich, indem die Geschwindigkeit der Glykogenbildung mit zunehmender Suspensionsdichte anfänglich rasch und dann sich asymptotisch einem Endwert nähernd, zunimmt. Es handelt sich also bei der Suspensionsdichte wie bei der Temperatur und Glukosekonzentration, um einen weitern Faktor, welcher den Verlauf der Glykogenbildung beeinflusst. Eine Ergänzung dieses Befundes ergibt sich auch aus einer bei den andern Versuchen gemachten Beobachtung: Bei noch so sorgfältiger Herstellung der Suspension kommt es vor, dass nicht alle Zellen frei im Suspensionsmilieu schwimmen, sondern sich darin einige Zellklümpchen finden; in allen Fällen wurde beobachtet, dass die zu Klümpchen verklebten Zellen Glykogen rascher speichern als die im Suspensionsmilieu frei schwimmenden[10]). In was diese eindeutig festgestellte Abhängigkeit der Glykogenbildung ihre eigentliche Ursache hat, ist vorläufig völlig unbekannt. Eine Beeinflussung der Geschwindigkeit der Glykogenbildung durch die Abnahme der Glukosekonzen-

[9]) „Die Änderung der Suspensionsdichte wirkt sich besonders stark bei der Glukoseaufnahme aus, indem dort die Glukoseaufnahme bei verdünnten Suspensionen erheblich grösser ist. Der Glukoseverbrauch zeigt dieses Abhängigkeitsverhältnis lange nicht in diesem Masse, was auch aus der Veränderung des Quotienten zwischen Aufnahme und Verbrauch hervorgeht" (Musfeld 1942, S. 611).

[10]) Weil sich diese verklebten Zellen anders verhalten, wurden sie jeweilen beim Auszählen nicht mitgezählt.

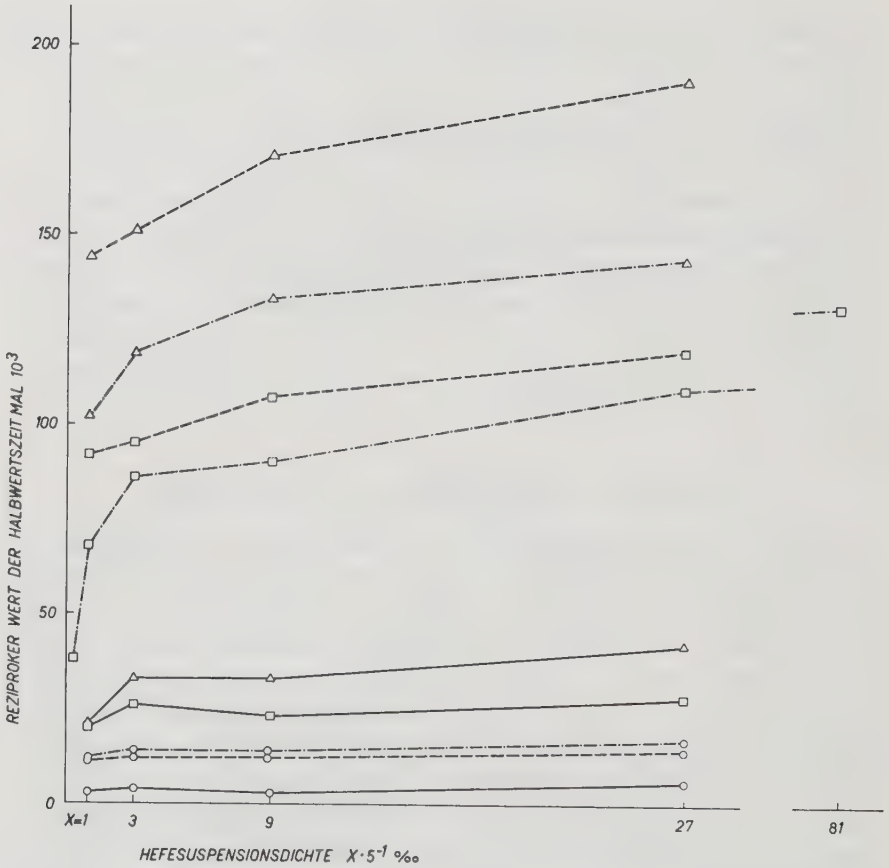

Abb. 7. Geschwindigkeit der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Hefesuspensionsdichte.

Temperaturen: △——△ 35° C; □——□ 25° C; ○——○ 5° C

Glukosekonzentrationen: – – – – 0,5%; –·–·–·– 5,0%; ——— 15,0%

tration in der Aussenlösung ist wenig wahrscheinlich, da Zuckerbestimmungen am Ende der Versuche eine unwesentliche, kaum messbare Abnahme ergaben. Dies ist auch insofern nicht verwunderlich, als es sich, besonders bei den Versuchen, die sich auf Temperaturen von 25° C und 35° C erstrecken, um verhältnismässig kurze Versuchszeiten handelt. Selbst, wenn die Abnahme der Glukosekonzentration im Suspensionsmilieu eine wesentlich grössere wäre, würde sie, wie Versuche gezeigt haben, keine so grossen Unterschiede in der Geschwindigkeit hervorrufen.

III. Die Glykogenbildung nach Zugabe verschiedener Zuckerarten

Auf der Basis der bisherigen Versuche und der einschlägigen Literatur ist es von Interesse, den Einfluss verschiedener Zuckerarten auf die Glykogenbildung zu untersuchen.

Schon LAURENT (Tome I, 1890) schreibt: «Tous les sucres sont alimentaires, mais à des degrés bien différents. Ainsi la glycose, la lévulose et surtout la saccharose et la maltose sont extrêmement favorables à la croissance et à la production de glycogène». Nach VOIT (1891) erfolgt die grösste Ansammlung von Glykogen nach Aufnahme von Traubenzucker, Rohrzucker und Lävulose. CREMER (1894) nimmt an, dass die Lävulose durch die Hefezelle in Dextrose umgewandelt wird. Er schreibt: „Ist nicht überhaupt die Probe auf Vergärbarkeit eines Zuckers identisch mit der Probe auf die leichte Umwandlungsfähigkeit durch Zellen, hier die Hefezellen, in Traubenzucker resp. in Hefeglykogen."

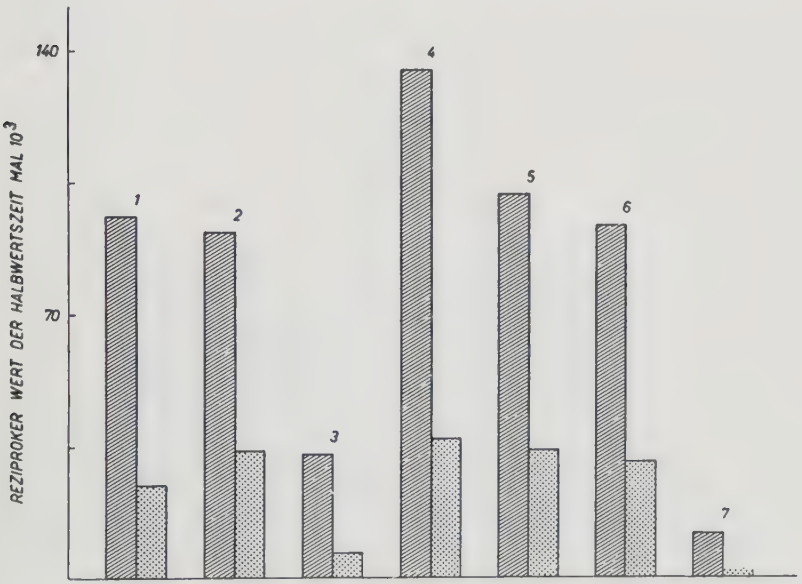

Abb. 8. Geschwindigkeit der Glykogenbildung bei Zugabe verschiedener Zuckerarten
Zuckerkonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte 3‰.
Temperaturen: 15° C ▒▒▒ 30° C ▒▒▒
1 = Raffinose; 2 = Saccharose; 3 = Maltose; 4 = Glukose; 5 = Fruktose;
6 = Mannose; 7 = Galaktose.
Laktose, Arabinose und Xylose bildeten kein Glykogen.

Tabelle 10.

Glykogenbildung nach Zugabe verschiedener Zucker; Temperatur 30° C; Zuckerkonzentration: m/30; Hefesuspensionsdichte: 3‰.

Vers. Nr.	Minuten	2	4	6	8	10	12	14	17	20	24	29	35	42	50	60	72	85	102	120	Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert des Mittelwertes
	Zucker	%																		%	min.	min.	%	
94	Raffinose	.	.	0	17	49	66	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,4	10,4		96
94	Saccharose	.	0	9	39	52	71	82	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,7			
95		.	0	13	25	47	61	68	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,3			
96		.	.	0	8	27	44	63	72	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	12,6	10,9	8,1	92
94	Maltose	.	.	.	.	0	20	34	39	47	54	65	71	86	95	100	.	.	.	.	21			
95		.	.	.	.	.	0	2	3	9	27	33	36	57	70	79	100	.	.	.	37,5			
											*	(5)	(18)	(29)	(38)	(55)	(58)				(56)			
96		.	.	.	.	.	.	0	11	23	31	50	54	65	69	83	90	100	.	.	31	29,8	16,1	33
94	Glukose	0	11	36	66	82	88	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,8			
95		0	8	37	73	88	92	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6,7			
96		0	3	33	60	79	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7,2			
99		0	0	10	55	66	73	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,0			
101		0	0	5	42	61	79	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	8,3	7,4	4,3	135
99	Fruktose	.	.	0	24	56	72	75	86	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9,6			
101		.	.	0	8	49	84	89	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,0	9,8	2,0	102
99	Mannose	.	.	0	18	40	62	81	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,8			
101		.	.	0	13	47	82	86	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10,2	10,5	2,8	95
95	Galaktose	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	28	77	89	100	78			
96		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	12	54	100	.	84	81	3,7	12

* Zellen mit auffallend viel Glykogen

Tabelle 11.

Glykogenbildung nach Zugabe verschiedener Zucker; Temperatur 15° C; Zuckerkonzentration: m/30; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$.

Vers. Nr.	Minuten	10	13	17	23	30	40	53	70	93	124	165	220	296	396	442				Halbwertszeit	Mittelwert	Mittlere Abweichung	Rez. Wert des Mittelwertes
		%																	%	Min.	Min.	%	
100	Raffinose	.	.	.	0	15	31	71	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	45,4			
102		.	.	0	16	37	75	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34,0	39,7	14,3	25
97	Saccharose	.	0	19	40	50	70	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29,0			
98		.	0	9	26	53	73	85	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29,0	29,0	0	34
97	Maltose	.	.	.	.	0	25	39	27	40	42	42	52	62	72	78	.	.	.	200			
98		.	.	.	0	7	14	33	55	69	71	75	87	95	.	.	.	.	.	65,0	132,5	50,8	7
97	Glukose	0	15	51	55	85	96	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	19,8			
98		.	0	26	49	57	71	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	23,5			
100		.	0	5	10	45	69	85	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31,5			
102		.	0	5	15	47	76	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31,6	26,6	10,7	37
100	Fruktose	.	0	7	39	50	72	86	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	28,9			
102		.	0	5	23	66	70	90	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29,5	29,2	1,0	34
100	Mannose .	.	.	0	14	47	72	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31,0			
102		.	0	11	20	41	78	87	100	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	32,4	31,7	2,2	31

Vers. Nr.	Minuten	.	.	.	.	.	.	60	72	85	102	120	144	179	216	258	366	408	430	Halbwertszeit			
		%																	%	Min.			
97	Galaktose	.	.	.	.	.	.	0	9	23	35	36	44	35	37	24	0	0	32	—			
98		.	.	.	.	.	.	15	8	6	6	15	11	6	11	6	6	.	.	—			

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 10 und 11 und die Geschwindigkeiten für die Temperaturen 15° C und 30° C in Abb. 8 dargestellt. Die grösste Geschwindigkeit bewirkt Glukose; die Eignung von Raffinose, Saccharose, Fruktose und Mannose ist unter sich unwesentlich verschieden. Während die Glykogenbildung durch diese Zucker keine Merkmale aufweist, die nicht schon bei der Darstellung der Versuche mit Glukose Erwähnung fanden, verhält sich die Glykogenbildung durch Maltose und Galaktose etwas anders, weshalb diese Versuche hier ausführlicher besprochen seien.

Maltose:

a) Versuchstemperatur 30° C (Tabelle 10): Die Glykogenbildung innerhalb der Population erfolgt anfänglich sehr schnell, nimmt aber ungefähr beim Erreichen der Halbwertszeit sehr stark ab. Auffallend ist der Unterschied im Glykogengehalt der einzelnen Zellen; neben Zellen mit sehr viel Glykogen (grosse Ballen) finden sich solche mit wenig oder keinem, ein Kontrast, der bei den übrigen Zuckern nie beobachtet wird. Es wurden deshalb in Versuch Nr. 96 auch die Zellen mit sehr viel Glykogen ausgezählt. Wie daraus hervorgeht, verlaufen Glykogenbildung und Zunahme der Zellen mit sehr viel Glykogen annähernd parallel.

b) Versuchstemperatur 15° C (Tabelle 11): Nach anfänglicher grosser Steigung tritt hier die Geschwindigkeitsabnahme in besonderm Masse hervor. In Versuch Nr. 97 enthalten nach 442 Minuten erst 78% aller Zellen Glykogen, obschon es nach 40 Minuten bereits 25% sind.

Allgemein setzt also die Speicherung des Glykogens nach Zugabe von Maltose später ein und beansprucht längere Zeit als zum Beispiel bei Zugabe von Raffinose, Saccharose, Glukose, Fruktose und Mannose. Zudem ist die Geschwindigkeit bei den verschiedenen Zellen sehr unterschiedlich; alte Zellen speichern auch hier besonders schnell. Neben prall gefüllten Zellen finden sich solche mit äusserst wenig oder gar keinem Glykogen. Das Bild der Glykogenbildung der Zellen ist also hier ein anderes als bei sämtlichen übrigen Zukkern; man kann geradezu zwischen einem Glukose- und Maltosetypus unterscheiden (s. a. S. 155).

Die Reaktion nach Barfoed fiel bei Maltose negativ und bei sämtlichen übrigen Zuckern positiv aus, woraus sich ergibt: Maltose wird als solche in die Zelle aufgenommen und direkt in Glykogen umgewandelt, es sei denn, sie wird dort noch in Glukose gespalten; im Gegensatz

dazu werden die übrigen glykogenbildenden Di- und Trisaccharide, auf Grund der Reaktion nach Barfoed, vor der Aufnahme in Monosaccharide gespalten. Dass Maltose vor der Aufnahme nicht in Glukose gespalten wird, nehmen Laurent (Tome I, 1890), Willstätter und Rohdewald (1937) und Beyerinck (1889) an. Nach Willstätter und Rohdewald (1937) wird Maltose bei langer Versuchsdauer, 48 Stunden und länger, als Glykogen gespeichert. Amthor (1888) führte mit *Saccharomyces apiculatus* Versuche aus und kommt zum Ergebnis, dass Maltose durch diese Hefe nicht direkt, sondern über Dextrose vergoren wird.

Galaktose:

Bei 30° C (Tabelle 10) verläuft die Glykogenbildung normal; das heisst, der Endwert von 100% wird erreicht.

Die Versuche bei 15°C (Tabelle 11) weisen eine grosse Unregelmässigkeit auf; der Halbwert wird nicht erreicht. Zellen mit viel Glykogen wurden bei beiden Temperaturen nie beobachtet. Es lässt sich daraus der Schluss ziehen, dass Galaktose als Glykogenbildner nicht besonders gut geeignet ist.

Laktose, Arabinose und Xylose, ebenso Mannit bildeten in meinen Versuchen weder bei 15° noch bei 30° C Glykogen; dabei ist hervorzuheben, dass bei Laktose die Reaktion nach Barfoed negativ ausfiel.

Beziehung zwischen Glykogenbildung und Gärfähigkeit

Es war nun auch von Interesse zu erfahren, ob zwischen Glykogenbildung und Gärfähigkeit ein Zusammenhang bestehe. Die Vergärbarkeit wurde mit Gärröhrchen nach Einhorn bestimmt, bei der Temperatur 30° C, mit einer Zuckerkonzentration 1/30 molar und mit einer Hefesuspensionsdichte von $3^0/_{00}$.

Nach Stone und Tollens (1888) ist ausser Traubenzucker und Fruchtzucker die Galaktose noch völlig, die Laktose dagegen nicht vergärbar. Cremer (1902) kommt ebenfalls zu einem Parallelismus zwischen Glykogenbildung und Gärung. Schon 1892 schreibt Cremer: „Die am leichtesten vergärenden Zucker von den bisher untersuchten einfachen Zuckern, Dextrose und Lävulose, sind unzweifelhaft Glykogenbildner"; und 1894 schreibt er: „In der Beeinflussung der Hefeglykogenbildung unterscheiden sich nach meinen bisherigen Versuchen die gärenden Zuckerarten typisch von allen andern Stoffen." Die Rolle des Glykogens als Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung auf Grund der Hypothese von Grüss wird von Euler (1914) untersucht; er

kommt aber dabei zu keinem sichern Schluss. Nach Nilsson (1941) wird Laktose durch gewöhnliche Press- und Bierhefe nicht vergoren, dagegen durch spezielle Laktosehefen. Man kann sogar die Gattung *Saccharomyces* nach dem Gärungsvermögen für verschiedene Zuckerarten in entsprechende Gruppen unterteilen (Rokitzka 1949, S. 78).

Meine Versuche ergeben eindeutig, dass zwischen Gär- und Glykogenbildungsfähigkeit eine Parallelität besteht; das heisst, es bilden nur diejenigen Zucker Glykogen, die von der Hefe auch vergoren werden. Stärkste Gärung weist Saccharose auf, dann folgen Glukose, Fruktose, Raffinose, Mannose, Maltose und zuletzt Galaktose (sehr schwach). Die geringe Gärung mit Maltose lässt sich mit ihrem Verhalten bei der Glykogenbildung leicht vereinbaren.

IV. Einfluss von Abbauprodukten des Kohlehydratstoffwechsels auf die Glykogenbildung

Nach Meyerhof (1930) werden verschiedene Abbauprodukte der Kohlehydrate im Muskel zu Glykogen resynthetisiert; es war deshalb von Interesse zu untersuchen, ob auch die verwendete Hefe diese Fähigkeit besitzt.

Die Versuche wurden mit der bis jetzt verwendeten Methode ausgeführt: Temperatur 30° C; Hefesuspensionsdichte 3‰; gleichzeitig wurde die Gärung mit Gärröhrchen nach Einhorn einer qualitativen Prüfung unterzogen. Um Gewissheit über die Aktivität der Hefe zu haben, wurden zur Kontrolle Glykogenbildung und Gärung unter Zugabe von Glukose verfolgt. Bei den Kontrollversuchen konnte in jedem Falle Gärung und Glykogenbildung festgestellt werden.

Es wurden folgende Stoffe untersucht:

Brenztraubensaures Natrium in Konzentrationen von 0,1; 1; 2; 4%
Glycerin in Konzentrationen von 0,5; 2; 4; 8%
Milchsäure in Konzentrationen von 0,05; 0,5; 2; 4%
Aethylalkohol in Konzentrationen von 0,5; 1; 2; 4%
Essigsäure in Konzentrationen von 0,05; 0,5; 2; 4%

In keinem Falle konnte, selbst nach 8 Stunden, Glykogenbildung oder Gärung beobachtet werden.

Dies ist interessant, da wenigstens für einzelne Stoffe Gärfähigkeit angegeben wird. So schreiben Euler und Lindner (1915), dass manche Hefen den Alkohol ebenso gut assimilieren wie jede Zuckerart, und wie bereits erwähnt, wird nach Lundin (1923) nicht der Zucker, son-

dern das Zwischenprodukt Alkohol assimiliert. Auf alle Fälle dürfen diese Versuche die schon früher geäusserte Ansicht erhärten, wonach Glykogenbildung und Gärbarkeit parallel laufen.

V. Energetische Vorgänge in der Zelle und Glykogenbildung

a) Temperatureinfluss: Um eine Beziehung zwischen Glykogenbildung und den energieliefernden Reaktionen der Zelle zu erhalten, wurden im Temperaturbereich zwischen 15,5° C und 50° C für die Glukosekonzentration 0,2%, 2%, 4% und 8% Atmung und Gärung mit der Warburgapparatur gemessen[11]).

Wie aus diesen Versuchen (Abb. 9) hervorgeht, steigt die Atmung mit zunehmender Temperatur ziemlich gleichmässig an bis zum Maximum von 40° C und fällt dann zwischen 40° C und 50° C rasch ab. Die Atmung (O_2-Verbrauch) zeigt bei höherer Glukosekonzentration eine Steigerung bei 30° C; für die CO_2-Bildung (Abb. 9) ist eher das Umgekehrte der Fall. Berechnet man die Kurven der reinen Gärung (totale CO_2-Bildung minus CO_2-Bildung durch Atmung), so ergibt sich, dass das Maximum bereits bei 35° C erreicht wird. Auch bei 0° C finden noch geringe Atmung und Gärung statt: Bei 3 cm^3 $2‰$ Hefesuspension und 0,6% Glukosekonzentration betrugen O_2-Verbrauch und CO_2-Bildung in 75 Minuten 5 mm^3 bzw. 3 mm^3 [12]).

Vergleicht man den Verlauf der Atmung und Gärung mit der Glykogenbildung, so fallen vor allem die Unterschiede in den Optima und in den Temperaturen oberhalb 40° C auf. Während das Temperaturoptimum der Glykogenbildung bei ca. 34° C liegt, finden sich die Optima der Atmung und Gärung bei etwa 40° C. In meinen Versuchen ist ferner die Feststellung auffallend, dass bei 45° C und 50° C noch Atmung und Gärung, wenn auch stark abnehmend, gemessen werden können, trotzdem schon bei etwa 43° C keine Glykogenbildung mehr stattfindet. Daraus ergibt sich, dass Glykogenbildung und energieliefernde Reaktionen in den Bereichen des Temperaturoptimums und der obern Temperaturgrenzen nicht parallel verlaufen; die Zelle stellt die Bildung von Reservestoffen ein, bevor die dissimilatorischen Vorgänge zum Stillstand kommen.

Man könnte vermuten, dass diese Erscheinung daher rührt, weil Atmung und Gärung bei 45° C bereits schon so hohe Werte erreichen,

[11]) Die Messungen wurden unter freundlicher Mithilfe von cand. phil. H. P. Rieder ausgeführt, wofür ich ihm herzlich danke.

[12]) Die Volumenangaben der Gase bei Gärungs- und Atmungsversuchen beziehen sich auf den Zustand bei 0° C und 760 mm Hg.

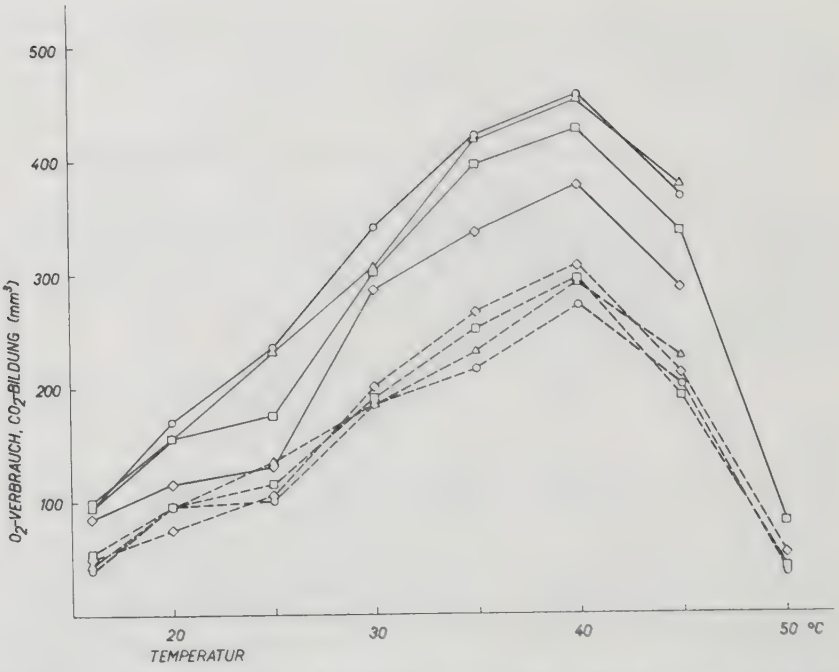

Abb. 9. Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxydbildung während 75 Minuten nach der Glukosezugabe. Hefesuspensionsdichte $2^0/_{00}$.

———— CO_2 Glukosekonzentrationen: ◇——◇ $0{,}2^0/_0$
— — — — O_2 $2{,}0^0/_0$
△——△ $4{,}0^0/_0$
○——○ $8{,}0^0/_0$

dass die Geschwindigkeit des Glykogenabbaus diejenige des Glykogenaufbaus übertrifft. Diese Vermutung ist unrichtig, denn Abb. 9 zeigt, dass Atmung und Gärung bei 45° C Werte zeigen, die annähernd jenen bei 33–35° C entsprechen, d. h. also jener Temperatur, bei der ein Maximum der Glykogenbildung festzustellen ist: Atmung und Gärung bei 50° C sind aber bedeutend kleiner. Ausserdem muss aus diesen Versuchen der Schluss gezogen werden, dass mindestens in den Temperaturbereichen oberhalb 43° C der Zucker vor der Vergärung und Veratmung nicht zuerst in Glykogen umgewandelt werden muss.

b) Versuche unter anaeroben Bedingungen: Stier (1939) untersuchte die Kohlehydrat- und Fettspeicherung in Bäckerhefe, indem er O_2-freien Stickstoff durchleitete. Er kommt zum Ergebnis, dass unter anaeroben Verhältnissen der Betrag der gespeicherten Kohlehydrate grösser ist, als bei Anwesenheit von Sauerstoff; dies tritt allerdings erst

2–3 Stunden nach der Glukosezugabe ein, vorher besteht zwischen aeroben und anaeroben Bedingungen kein Unterschied.

In den eigenen Versuchen wurde der Stickstoff einer Stahlflasche entnommen, und zur Entfernung des Sauerstoffes durch eine Pyrogallollösung und über mit Pyrogallol getränkten Bimsstein, sowie durch eine Reduktionsröhre mit glühendem Kupferdrahtnetz geleitet. Ein eingeschaltetes Gefäss mit Aqua dest. diente der Erhaltung einer normalen Dampfspannung; trockener Stickstoff könnte durch Wasserdampfaufnahme die Konzentration in den Versuchsflüssigkeiten verändern. Die vor jedem Versuch ausgeführte Phosphorprobe zeigte, dass der gereinigte Stickstoff praktisch sauerstofffrei war. Zur Kontrolle wurde stets ein Versuch unter aeroben Bedingungen ausgeführt. Im folgenden sei die Durchführung eines Versuches im einzelnen wiedergegeben:

1. Durchleiten von Stickstoff durch die Hefesuspension, ohne Schütteln, während 1 Stunde 15 Minuten.
2. Pipettieren aus der Suspension in die Versuchsgefässe, Durchleiten von Stickstoff, mit Schütteln, während 2 Stunden 40 Minuten.
3. Leiten von Stickstoff durch die Glukoselösung, während 45 Minuten.
4. Verschliessen der Hefesuspensionen und Glukoselösungen enthaltenden Gefässe mit Gummistopfen.
5. Einwirkung der Versuchstemperatur, während 15 Minuten.
6. Zusammengiessen der Glukoselösungen und Hefesuspensionen.
7. Probeentnahmen zu den in Tabelle 12 enthaltenen Zeiten nach der Glukosezugabe.

Tabelle 12.

Versuch Nr. 103: Glykogenbildung unter aeroben und anaeroben Bedingungen; Temperatur 30° C; pH ca. 5,5; Zucker: Glukose; Hefesuspensionsdichte: $3^{0}/_{00}$.

Glukose-Konzentration	Minuten	4	6	8	10	12	14	24	29	35	42	50	Halbwertszeit
		%										%	Min.
m/30	aerob	0	18	60	77	93	100						7,5
	anaerob	0	18	60	75	91	100						7,5
m/1	aerob							0	14	41	66	100	37,5
	anaerob							0	16	50	66	100	37,0

Da in diesem Versuch (Tabelle 12) kein Unterschied in der Geschwindigkeit der Glykogenbildung zwischen aeroben und anaeroben Verhältnissen festgestellt werden konnte, wurde, um die Gewissheit sicherer anaerober Bedingungen zu vergrössern, die Methode wie folgt abgeändert: Zum Verschliessen der Versuchsgefässe wurden speziell zugerichtete Gummistopfen angefertigt, die es ermöglichten, dass die Gefässe während der ganzen Versuchsdauer nicht mehr geöffnet werden mussten. Nachdem dann angenommen werden konnte, dass auch der letzte Rest von Sauerstoff aus den Versuchsgefässen verdrängt war, wurden die Zuleitungs- und Ausströmröhrchen mit einer Gasflamme zugeschmolzen. Im Gegensatz zu allen andern Versuchen wurde die Glukose hier nicht in Lösung, sondern als Pulver in einem offenen Glasröhrchen zugegeben, das schon vor dem Verdrängen der Luft durch Stick-

stoff an dem Spezialstopfen angebracht worden war. Dieses kleine Röhrchen wurde mit einem im Stopfen gleitenden Glasstab abgestossen. Da die darin enthaltene kleine Glukosemenge innert kürzester Zeit gelöst wird, konnte die Zugabe in dieser Form verantwortet werden. Die Versuchsgefässe wurden nur einmal, zur Probeentnahme, geöffnet. Der Gang der nach dieser Methode ausgeführten Versuche sei hier im einzelnen besprochen:

Versuche Nr. 104 und 105:

1. Leiten von gereinigtem Stickstoff durch die Hefesuspension, ohne Schütteln, während 1 Stunde.
2. Abpipettieren der Hefesuspension in die Versuchsgefässe, Befestigen der Glukose enthaltenden Glasröhrchen an den Gummistopfen und Verschliessen der Versuchsgefässe damit.
3. Leiten von gereinigtem Stickstoff durch die Versuchsgefässe, mit Schütteln, während 1 Stunde.
4. Zuschmelzen der zu- und abführenden Glasröhren.
5. Schütteln der gasdicht verschlossenen Versuchsgefässe während einer Vorperiode von $^5/_4$ Stunden, während der letzten Viertelstunde genau auf Versuchstemperatur.
6. Weiterschütteln, abstossen der Glasröhrchen vom Stopfen (= Zugabe der Glukose) und Probeentnahmen gemäss den Zeittabellen (Tab. 13 und 14).

Tabelle 13.

Versuch Nr. 104: Glykogenbildung in Abhängigkeit von aeroben und anaeroben Bedingungen; Temperatur 30° C; pH ca. 5,8; Glukose-Konzentration m/30; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$.

Minuten	6	9	12	15	Halbwertszeit
	%			%	Min.
aerob	22	68	88	100	7,8
anaerob	15	71	88	100	7,8

Tabelle 14.

Versuch Nr. 105: Glykogenbildung in Abhängigkeit von aeroben und anaeroben Bedingungen; Temperatur 15° C; pH ca. 6,1; Glukose-Konzentration m/30; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$.

Minuten	12	18	27	40	Halbwertszeit
	%			%	Min.
aerob	14	50	68	100	20,5
anaerob	17	46	67	100	20,5

Die Versuchswerte (Tabellen 13 und 14) ergeben eindeutig, dass bei beiden untersuchten Temperaturen die Geschwindigkeit der Glykogenbildung sowohl unter aeroben als anaeroben Bedingungen dieselbe ist.

Dieses Ergebnis gestattet die Schlussfolgerung, dass die Atmung auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung während dieser Versuchszeit keinen Einfluss ausübt.

Nachdem die Atmungsenergie für die Glykogenbildung nicht nötig ist, ist es von Interesse zu prüfen, in wieweit die Gärung die Geschwindigkeit der Glykogenbildung beeinflusst.

c) Einfluss atmungs- und gärungshemmender Stoffe:

a. Versuche mit Monojodessigsäure: Bekanntlich lassen sich Atmung und Gärung durch Blausäure und Monojodessigsäure spezifisch hemmen und trennen (Warburg 1923 und 1925; Nilsson, Zeile und v. Euler 1931). Nach Lundsgaard (1930 und 1932) ist der Konzentrationsbereich, innerhalb dessen die Gärung mit Halogenessigsäure zum Stillstand gebracht werden kann, ohne die Atmung zu vernichten, ein recht enger. Stier und Stannard (1936) stellen fest, dass die innere Atmung der Bäckerhefe, wie sie die Gärung bezeichnen, KCN-labil ist.

Tabelle 15.

Versuch Nr. 124: Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Monojodessigsäurekonzentration; Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$. Zugabe der Monojodessigsäure und Glukose: gleichzeitig.

Minuten	2	4	7	10	14	Halbwertszeit
Monojodessigsäurekonz.	%				%	Min.
0	0	8	61	88	100	6,3
10^{-5} molar	0	8	60	88	100	6,6
10^{-4} molar	0	14	60	88	100	6,4
10^{-3} molar	nach 206 Minuten noch kein Glykogen					∞

Wie aus Tabelle 15 ersichtlich ist, wird bei gleichzeitiger Zugabe von Monojodessigsäure und Glukose die Geschwindigkeit der Glykogenbildung durch die Monojodessigsäure-Konzentrationen 10^{-5} und 10^{-4} molar nicht verändert, durch die Konzentration 10^{-3} molar aber vollständig gehemmt.

Um einen Anhaltspunkt über den Einfluss länger einwirkender Monojodessigsäure zu erhalten, wurde im folgenden Versuch Nr. 125 (Tabelle 16) die Monojodessigsäure 60 Minuten vor der Glukose zugegeben.

Tabelle 16.

Versuch Nr. 125: Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Monojodessigsäurekonzentration; Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$. Zugabe der Monojodessigsäure: 60 Minuten vor der Glukosezugabe.

Minuten	2	4	7	10	14	19	26	35	47	63	85	114	153	206	Halbwertszeit
Monojodessigsäurekonz.	%													%	Min.
0	0	6	50	88	100										7,0
10^{-5} molar	0	5	56	86	100										6,7
10^{-4} molar	0	0	0	0	1	3	5	12	8	10	29	71	86	100	100
10^{-3} molar	nach 206 Minuten noch kein Glykogen														∞

Bei der Monojodessigsäurekonzentration 10^{-5} molar verläuft die Glykogenbildung gleich schnell wie beim Kontrollversuch; bei der Kon-

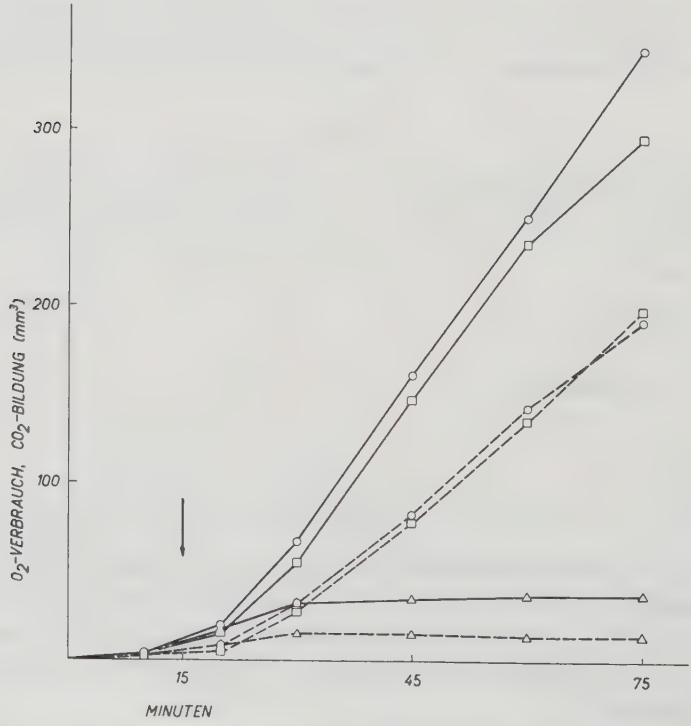

Abb. 10. Einfluss der Monojodessigsäure auf Atmung und Gärung. Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte $3^0/_{00}$.
Konzentration der Monojodessigsäure: ○——○ Kontrolle
———— CO_2 □——□ 10^{-4} molar
— — — — O_2 △——△ 10^{-3} molar
Zugabe von Glukose und Monojodessigsäure: ↓

zentration 10^{-4} molar dagegen bedeutend langsamer: Die Halbwertszeit beträgt 100 Minuten, bei 10^{-3} molar kommt es nicht mehr zur Glykogenbildung.

Betrachtet man die Ergebnisse der beiden soeben besprochenen Versuche vergleichend, so lässt sich über die Wirkung der Monojodessigsäure auf die Glykogenbildung folgendes festhalten:

1. Die Konzentration 10^{-5} molar bewirkt in beiden Versuchen keine Veränderung der Geschwindigkeit der Glykogenbildung.
2. Die Konzentration 10^{-4} molar hemmt die Geschwindigkeit nur, wenn die Monojodessigsäure 60 Minuten vor der Glukose zugegeben wird; der Einfluss der Einwirkungszeit der Säure macht sich also hier geltend.
3. Die Konzentration 10^{-3} molar hemmt in beiden Versuchen die Glykogenbildung vollständig; selbst 206 Minuten nach der Glukosezugabe konnte keine Spur von Glykogenbildung beobachtet werden.

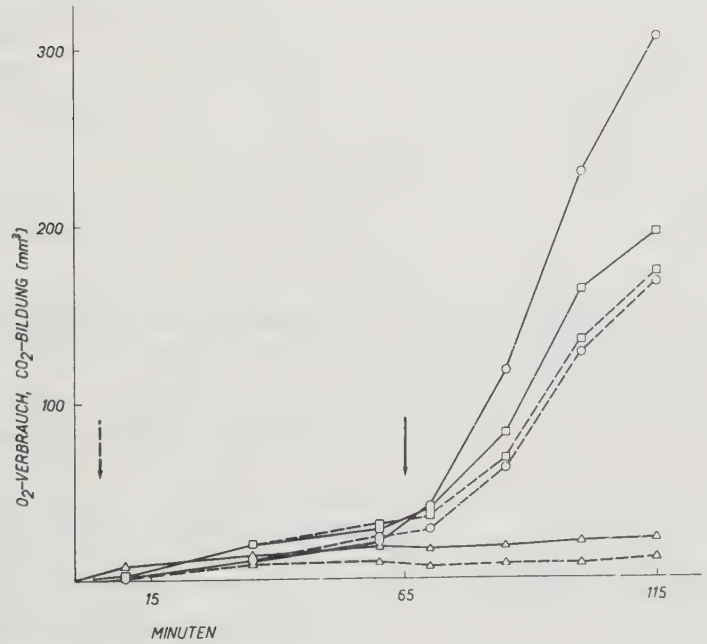

Abb. 11. Einfluss der Monojodessigsäure auf Atmung und Gärung. Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte 3‰.
Konzentration der Monojodessigsäure: ○——○ Kontrolle
———— CO_2 □——□ 10^{-4} molar
— — — — O_2 △——△ 10^{-3} molar
Zugabe von Glukose (↓) und Monojodessigsäure (⋮).

Verfolgt man den Verlauf der in gleicher Weise und gleichzeitig ausgeführten Atmungs- und Gärungsmessungen, so fallen vor allem die kleinen Werte bei der Monojodessigsäurekonzentration 10^{-3} molar auf, die in Versuch Nr. 124 (Abb. 10) infolge der kürzern Einwirkungszeit der Säure etwas grösser sind als in Versuch Nr. 125 (Abb. 11).

β. Versuche mit Blausäure: In den Versuchen Nr. 126 (Tabelle 17) und Nr. 127 (Tabelle 18) wurde Blausäure gleichzeitig bzw. 60 Minuten vor der Glukose beigefügt. In beiden Fällen treten Unterschiede in der Geschwindigkeit der Glykogenbildung auf.

Auffallend ist die Tatsache, dass in beiden Versuchen, sowohl bei der Blausäurekonzentration 10^{-4} als 10^{-2} molar, innerhalb kurzer Zeit Glykogen gebildet wird.

Tabelle 17.

Versuch Nr. 126: Glykogenbildung in Abhängigkeit von der KCN-Konzentration; Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte: 3‰; Zugabe von KCN und Glukose: gleichzeitig.

Minuten	2	4	7	10	14	19	26	35	Halbwertszeit
KCN-Konz.	%							%	Min.
0	0	8	41	81	100				7,8
10^{-4} molar	0	0	28	61	84	100			9,0
10^{-2} molar	0	0	0	0	22	59	72	100	17,8

Tabelle 18.

Versuch Nr. 127: Glykogenbildung in Abhängigkeit von der KCN-Konzentration; Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte: 3‰; Zugabe des KCN: 60 Minuten vor der Glukosezugabe.

Minuten	2	4	7	10	14	19	26	35	Halbwertszeit
KCN-Konz.	%							%	Min.
0	0	2	21	70	100				8,8
10^{-4} molar	0	0	15	41	70	100			11,4
10^{-2} molar	0	0	0	11	58	82	86	100	13,2

Betrachtet man die zugehörigen, gleichzeitig ausgeführten Atmungs- und Gärungsmessungen (Abb. 12 und 13), so ist für die vorliegenden Betrachtungen vor allem die hemmende Wirkung der Blausäurekonzentration 10^{-2} molar interessant, die etwas grösser ist, wenn die Säure nicht gleichzeitig, sondern 60 Minuten vor der Glukose zugegeben

wird. In Versuch Nr. 126 (Abb. 12) sind Atmung und Gärung, wenn auch nicht null, so doch klein. Besonders interessant ist das Ergebnis von Versuch Nr. 127 (Abb. 13) insofern, als hier, trotzdem Atmung und Gärung durch die Blausäurekonzentration 10^{-2} molar vollständig gehemmt sind, in verhältnismässig kurzer Zeit Glykogen gebildet wird.

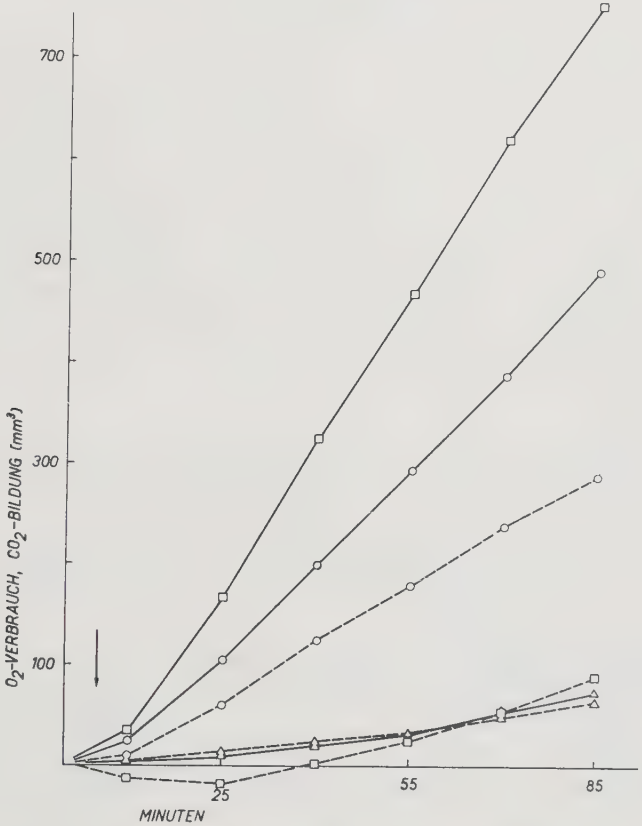

Abb. 12. Einfluss der Blausäure auf Atmung und Gärung. Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte $3^0/_{00}$.
Konzentration der Blausäure: ○——○ Kontrolle
———— CO_2 □——□ 10^{-4} molar
— — — — O_2 △——△ 10^{-2} molar
Zugabe von Glukose und Blausäure: ↓

Alle die besprochenen Versuche dienen dem Bestreben, eine gewisse Einsicht in die Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Glykogenbildung von den energetischen Verhältnissen der Zelle zu gewinnen. Obwohl die Versuche nicht alle Fragen restlos abgeklärt haben, so erlauben sie doch zu schliessen, dass die Koppelung der Glykogenbildung mit den

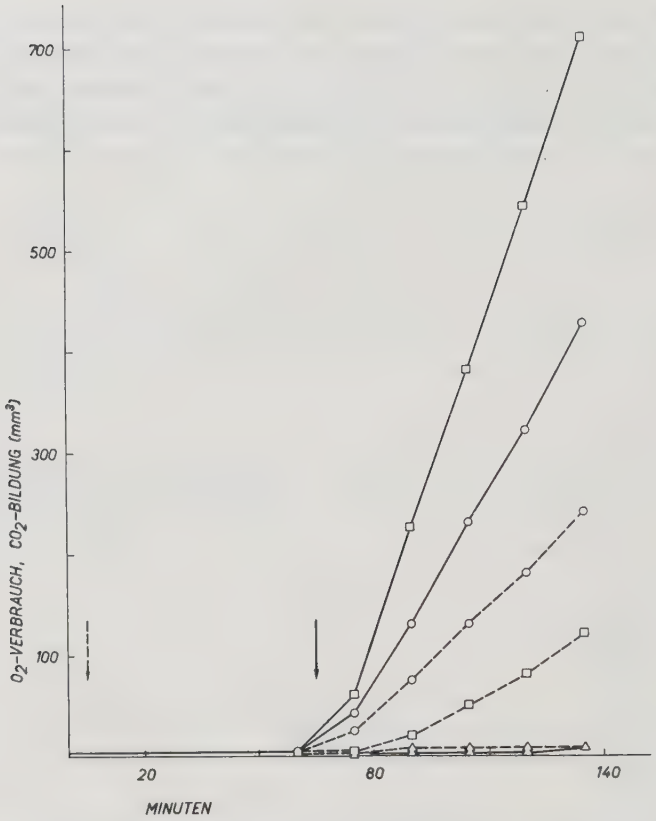

Abb. 13. Einfluss der Blausäure auf Atmung und Gärung. Temperatur 30° C; Glukosekonzentration m/30; Hefesuspensionsdichte $3^0/_{00}$.
Konzentration der Blausäure: ○——○ Kontrolle
———— CO_2 □——□ 10^{-4} molar
— — — — O_2 △——△ 10^{-2} molar
Zugabe von Glukose (↓) und Blausäure (⋮).

Dissimilationsvorgängen, wenn überhaupt vorhanden, so sicher nur locker ist, da sich die beiden Enzymsysteme in bezug auf den Einfluss der Temperatur, des Sauerstoffs und von Hemmstoffen ganz verschieden verhalten. Aus der Tatsache, dass die Glykogenbildung stattgefunden hat, auch wenn Atmung und selbst Gärung abgestoppt sind, geht hervor, dass für die Glykogenbildung und natürlich auch für die Zuckeraufnahme keine oder nur sehr wenig Energie von der Zelle zur Verfügung gestellt werden muss. Ein weiteres wichtiges Resultat dieser Versuche ist, dass der Zucker vor dem Abbau durch Gärungs- und Atmungsvorgänge keineswegs zuerst in Glykogen umgewandelt werden muss; selbst

wenn die Glykogenase in ihrer Tätigkeit völlig gehemmt ist (durch hohe Temperatur), verlaufen die Dissimilationsvorgänge mit normaler Geschwindigkeit weiter.

VI. Versuche über den Einfluss von Ionen und Wirkstoffen auf die Glykogenbildung

a) Einfluss von Phosphat: Aus den Arbeiten von Wroblewski (1901), Harden und Young (1906), Iwanoff (1910), Euler und Lindner (1915) geht hervor, dass die Zugabe von löslichem Phosphat die Gärungsgeschwindigkeit der Hefe steigert. Da zudem beim Kohlehydratstoffwechsel das Phosphat sich zu Glukoseestern verbindet (Meyerhof und Kissling 1933), war zu erwarten, dass auch auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung ein Einfluss bestehen könnte.

Als Phosphat wurden NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 im Verhältnis 2:3 verwendet. Das pH wurde am Ende der Versuche bestimmt; der mittlere Phosphatgehalt der Hefe betrug 2,50%, bezogen auf das Trockengewicht[13]).

Tabelle 19.

Halbwertszeiten der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Phosphatkonzentration; Temperatur 30° C; Glukosekonzentration 5%; Hefesuspensionsdichte: 3‰.

Vers. Nr.	Phosphat-Konz.	0		m/1000		m/100		m/10	
		Halbwerts-zeit	pH	Halbwerts-zeit	pH	Halbwerts-zeit	pH	Halbwerts-zeit	pH
	Zugabe des Phosphats	Min.		Min.		Min.		Min.	
130	gleichzeitig mit der Glukosezugabe . .	11,3	5,2	10,8	5,2	11,1	6,4	10,5	6,4
86	20 Min. vor der Glukosezugabe . .	9,6	4,5	9,8	4,7	9,8	6,3	9,8	6,3
87	20½ Std. vor der Glukosezugabe . .	10,4	5,2	11,2	5,5	11,0	6,4	10,0	6,7

Wie aus Tabelle 19 hervorgeht, sind die Geschwindigkeiten nicht signifikant verschieden, so dass eine Zugabe von Phosphat in diesem Falle keinen Einfluss auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung hat. Diese Feststellung stimmt mit Forschungen von Pavy und Bywaters (1908) überein; auch sie konnten durch Zugabe von Na_2HPO_4 die Glykogenbildung nicht sichtbar beeinflussen.

[13]) Bestimmt nach Woy und nach Blair (s. Treadwell, Kurz. Lehrb. analyt. Chemie, 11. Aufl., Leipzig und Wien, S. 371 und 506).

b) Einfluss von Kalium-Ionen: Der Kaliumgehalt der Bierwürze übt nach Euler und Lindner (1915, S. 75) einen starken Einfluss auf den Vergärungsgrad aus, wenn auch nach Vogel (1949, S. 99) geringe Mengen genügen. Verzàr und Pulver (1940) untersuchten, ob Hefe nach Zusatz von Glukose Kalium aufnimmt oder abgibt. Sie führten ihre Versuche mit 20%iger Hefeaufschwemmung und bei 20° C durch; die Konzentration der zugesetzten Glukose betrug 0,7%. Sie kommen zum Ergebnis, dass Glukose- und Kaliumgehalt der Versuchslösung parallel abfallen, und zwar je grösser die zugesetzte Glukosemenge, desto grösser ist auch die Kaliumabnahme. Bei Zugabe von 10^{-3} molar Jodessigsäure werden Zucker- und Kaliumabnahme in der Versuchsflüssigkeit gehemmt, und die Gärung wird vollkommen aufgehoben; Zugabe von 2.10^{-3} molar NaCN bewirkt parallele Verzögerung der Zucker- und Kaliumaufnahme und teilweise Hemmung der Gärung. Diese Versuche zeigen also eine enge Koppelung des Kalium- und Kohlehydratstoffwechsels der Hefezellen.

Tabelle 20.

Halbwertszeiten der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Kaliumkonzentration; Temperatur 30° C; Glukosekonzentration 5%; Hefesuspensionsdichte: 3‰.

	KCl-Konz.	0		m/1000		m/100		m/10	
		Halbwerts-zeit	pH	Halbwerts-zeit	pH	Halbwerts-zeit	pH	Halbwerts-zeit	pH
129	Zugabe des Kaliums gleichzeitig mit der Glukosezugabe . .	Min. 11,4	5,2	Min. 11,1	5,2	Min. 10,9	5,2	Min. 11,0	5,2
89	20 Min. vor der Glukosezugabe . .	10,3		10,2		10,2		10,3	
88	15½ Std. vor der Glukosezugabe	9,9	5,2	9,6	5,2	9,3	5,3	10,5	5,2

Die ausgeführten Versuche (Tabelle 20) ergeben keinen Einfluss der Kalium-Ionen auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung, weshalb diesem Problem nicht weiter nachgegangen wurde.

c) Einfluss von Ascorbinsäure: Die biologische Funktion der Ascorbinsäure wird mit den Oxydo-Reduktionsvorgängen in den Zellen in Verbindung gebracht, indem sie bei enzymchemischen Reaktionen regulierend eingreift (Edlbacher (1938, S. 302). Galli (1946) stellte fest, dass die Ascorbinsäure im Stoffwechsel von *Aspergillus niger* als Nährstoff, als Wirkstoff, wachstumsfördernd und wachstumshemmend wirken kann, je nach den Lebensbedingungen des Pilzes.

Nach Vogel (1949, S. 46) enthält allerdings die Hefezelle keine Ascorbinsäure, was aber noch nicht heissen will, dass alle Stoffwechselvorgänge der Hefezelle gegenüber Ascorbinsäure unempfindlich sein müssen.

Untersucht man die Glykogenbildung nach Ascorbinsäurezugabe, so findet man (Tab. 21), dass die Geschwindigkeit der Glykogenbildung durch die dargebotenen Ascorbinsäurekonzentrationen keine Veränderung erleidet, weshalb keine weitern Versuche ausgeführt wurden.

Tabelle 21.

Halbwertszeiten der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Ascorbinsäurekonzentration; Glukosekonzentration 0,5%; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$. Zugabe der Ascorbinsäure: $2^1/_4$ Stunden vor der Glukose.

Vers. Nr.	Ascorbinsäurekonz. %	0	0,003	0,03	0,3
	Temp.	Min.	Min.	Min.	Min.
90	30° C	7,4	7,8	7,7	7,6
91	15° C	21,4	22,5	20,5	22,4

d) Einfluss von Aneurin: Bekanntlich kommt Aneurin in der Hefezelle in Form des Phosphorsäureesters vor, der als Cocarboxylase die prosthetische Gruppe des Enzyms Carboxylase bildet (z. B. Vogel 1949, S. 50). Da Aneurin im tierischen und pflanzlichen Organismus bei der Verwertung der Kohlehydrate benötigt wird, wurde untersucht, ob nicht auch ein Einfluss auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung, wenn auch nur indirekt, besteht.

Tabelle 22.

Halbwertszeiten der Glykogenbildung in Abhängigkeit von der Aneurinkonzentration; Temperatur 30° C; Hefesuspensionsdichte: $3^0/_{00}$. Zugabe des Aneurins: 2 Stunden vor der Glukose.

Vers. Nr.	Aneurinkonz. %	0	3.10^{-7}	3.10^{-6}	3.10^{-5}
	Glukosekonz. %	Min.	Min.	Min.	Min.
92	0,5	7,4	7,2	7,4	7,3
93	20,0	38,4	39,8	39,6	39,6

Der Aneuringehalt der frischen Hefe betrug, bezogen auf das Trockengewicht, 0,6 mg/100 g Hefe, eine andere Probe ergab 0.8 mg/100 g Hefe[14]).

Wie aus Tabelle 22 ersichtlich ist, bewirkt eine Zugabe von Aneurin in obigen Konzentrationen keinen signifikanten Einfluss auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung, weshalb auch diese Frage nicht weiter verfolgt wurde.

Um näheres über eine eventuelle Wirkung des Phosphats, des Kaliums und des Aneurins auf die Geschwindigkeit der Glykogenbildung zu erfahren, müsste man offenbar Hefe züchten, die von diesen Stoffen möglichst frei wäre.

Allgemeine Betrachtungen

Nachdem einzelne Besprechungen bereits an die Versuchsergebnisse angeschlossen wurden, seien sie hier noch durch einige andere Gedanken weitergeführt und ergänzt.

Für die Deutung der Versuche muss man sich vor Augen halten, dass nicht die absolut gebildete Glykogenmenge, sondern die Differenz zwischen Bildung und Verbrauch, festgestellt wird. Sichtbares Auftreten von Glykogen bedeutet demnach, dass die Speicherung einen allfälligen Verbrauch überwiegt.

Angesichts der Tatsache, dass es sich bei der Glykogenbildung um einen enzymchemischen Vorgang handelt, ist die Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Glykogenbildung von Temperatur und Glukosekonzentration nicht überraschend. Aus dem Ergebnis, wonach die Zelle bei 0° C noch Glykogen bildet und auch gärt und atmet, geht hervor, dass bei dieser Temperatur die Stoffwechselvorgänge, wenn auch stark reduziert, immer noch mit merklicher Geschwindigkeit ablaufen und dass die Bildung von Reservestoff die Dissimilation überwiegt.

Die Geschwindigkeit der Glykogenbildung nimmt stark ab, nachdem die optimale Temperatur überschritten ist. Die Ansicht, dass die Ursache davon in starker Dissimilation zu suchen ist, wobei sich das Verhältnis zwischen Bildung und Verbrauch verschiebt, kann nicht gelten, da bei diesen Temperaturen die Dissimilationsgeschwindigkeit an Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydabgabe gemessen (s. Abb. 9) nicht grösser ist als bei etwa 28° C. Es muss daher wohl eine spezifische Denaturie-

[14]) Die erste Bestimmung wurde mit dem *Phycomyces*-Test ausgeführt; die zweite mit der Thiochrom-Methode. Nach Vitamin-Vademaecum „Roche" 1945, S. 59, enthalten 100 g Bäckerhefe 0,6 bis 2 mg Aneurin.

rung von Glykogenase angenommen werden, und zwar schon bei Temperaturen, die den Enzymsystemen der Dissimilation noch nicht gefährlich sind.

Die von Willstätter und Rohdewald (1937) aufgestellte Hypothese, dass der zur Atmung und Gärung nötige Zucker aus dem Glykogen stamme, hat daher wenigstens für diesen obern Temperaturbereich keine Geltung, oder man nehme denn an, dass das gebildete Glykogen sofort, in statu nascendi, durch die Dissimilationsvorgänge verbraucht werde.

Überraschend ist die äusserst starke Zunahme der Geschwindigkeit der Glykogenbildung im Bereich der minimalen und optimalen Glukosekonzentrationen (Abb. 5); damit verglichen, erfolgt die Geschwindigkeitsabnahme nach Überschreiten des Optimums bedeutend langsamer. Besonders die Zunahme, aber auch die Abnahme dürften durch das Verhältnis Substrat-Enzym bedingt sein, wobei sich das Substrat bzw. das Enzym im Minimum befindet; bei steigender Glukosekonzentration werden zudem die osmotischen Verhältnisse in der Zelle ungünstiger und können daher als zusätzlich begrenzender Faktor wirken.

Die Versuche über die Abhängigkeit der Glykogenbildung von der Suspensionsdichte (Abb. 7) sind in der Deutung der Ergebnisse am undurchsichtigsten; man kann aus ihnen und aus der Beobachtung, wonach die zu Klümpchen vereinigten Zellen Glykogen rascher speichern, als die im Suspensionsmilieu frei schwimmenden, vorläufig nur folgern, dass entweder die verklebten Zellen weniger als die frei schwimmenden dissimilieren oder, dass die isolierte Einzelzelle sich überhaupt anders verhält als die Zelle im, selbst lockeren, Verbande.

Der Vollständigkeit halber sei noch auf die Lokalisierung des Glykogens in der Zelle eingegangen. Nach Meissner-Dessau (1900) ist das Glykogen nicht gleichmässig verteilt, sondern an bestimmten Stellen des plasmatischen Zellinhaltes zu finden. Gegen die häufig in der Literatur anzutreffende Ansicht, dass das Glykogen in bestimmten Vakuolen vorkomme, wendet sich Henneberg (1912); er hält die übliche Bezeichnung „Glykogenvakuolen" für falsch und argumentiert: „Das Glykogen liegt normalerweise niemals an durch etwas festere Plasmawandungen abgegrenzten Stellen. Es durchdringt vielmehr an jeder beliebigen Stelle das Plasma und findet sich häufig in den sekundären Vakuolen". Ebenso erscheint es nach Brandt (1941–42) im Zytoplasma zerstreut.

Meine Beobachtungen an über 150 000 Zellen haben mich nie von der Existenz besonderer „Glykogenvakuolen" überzeugen können. Die Glykogenbildung beginnt vielmehr, entweder gleichzeitig oder nach und nach, an jeder beliebigen Stelle des Plasmas; diese Ansammlungen ver-

einigen sich mit zunehmender Grösse, so dass, lässt man genügend lange Zeit Glukose einwirken, die Zelle zuletzt mit einem oder zwei grossen Glykogenballen prall gefüllt ist.

Das Verhalten der sprossenden Zellen beschreibt Brandt (1941 bis 1942): „Setzt man Glukose den gewaschenen Zellen einer in starkem Wachstum begriffenen Kultur zu, so beobachtet man, dass die Knospen gewöhnlich kein Glykogen aufspeichern, während dagegen die Mutterzelle grosse Mengen hievon aufweist". Diese Beobachtung fand ich in meinen Versuchen bestätigt, kann sie aber nach folgender Seite hin ergänzen: Wirkt Glukose entsprechend lange ein, so bilden auch die Tochterzellen Glykogen, welches hier, im Gegensatz zu den Mutter- und übrigen Einzelzellen, stets auf eine Stelle lokalisiert ist. Diese sehr viel später einsetzende Speicherung kann dadurch verursacht sein, dass Tochterzellen erst zur Reservestoffbildung übergehen, wenn der für Wachstum und Betrieb notwendige Bedarf an Zucker überschritten ist.

Zusammenfassung der Ergebnisse

A. Methodisches

1. Die Geschwindigkeit der Glykogenbildung wurde in frischen glykogenfreien Hefezellen (Bäckerhefe) in Abhängigkeit von folgenden Bedingungen untersucht: Temperatur, Glukosekonzentration, Hefesuspensionsdichte, verschiedene Zuckerarten, Sauerstoffverhältnisse, Ionen und Wirkstoffe.
2. Die Glykogenbildung wurde mikroskopisch bestimmt, nachdem die Zellen mit Jodlösung getötet und gefärbt worden waren.
3. Die für die mikroskopische Beobachtung günstigste Glykogenreaktion trat auf, wenn das Verhältnis der Jodlösung zu der auf dem Objektträger befindlichen Versuchslösung etwa 1:25 betrug.
4. Die qualitative Methode des Glykogennachweises wurde dadurch in eine quantitative umgewandelt, dass zu verschiedenen, geeignet gewählten Zeitpunkten nach Zuckerzugabe, die Zahl der Zellen bestimmt wurde, die jeweilen eben erste Glykogenreaktion aufwiesen; diese Zahl wurde zur Gesamtzahl der in jedem Zeitpunkt beobachteten Zellen in Beziehung gesetzt und als prozentischer Anteil berechnet.
5. Als Mass für die Geschwindigkeit der Glykogenbildung wurde der reziproke Wert der Halbwertszeit gewählt, wobei unter Halbwertszeit die Zeit verstanden wird, bei welcher 50% aller untersuchter Zellen der Population Glykogen aufweisen.

6. Die Glykogenbildung innerhalb der Population verläuft infolge der individuellen Unterschiede zwischen den Zellen nach einer S-Kurve.

B. Experimentelle Ergebnisse

7. Die Geschwindigkeit der Glykogenbildung in Abhängigkeit von Temperatur und Glukosekonzentration stellt eine Optimumkurve dar.
8. Unterste und oberste Temperaturgrenzen der Glykogenbildung hängen von der Zuckerkonzentration ab.
9. Bei 0° C wird noch Glykogen gebildet.
10. Die Temperaturoptima der Glykogenbildung liegen bei allen untersuchten Glukosekonzentrationen bei ca. 34° C.
11. Die kürzeste Halbwertszeit (Vers. Nr. 55) betrug 5,0 Minuten, (Hefesuspensionsdichte 1,2‰, Temperatur 37° C, Glukosekonzentration 0,05%), wobei nach 4 Minuten bereits glykogenführende Zellen auftraten.
12. Die niederste Glukosekonzentration, bei der noch Glykogen gebildet wurde, betrug 0,005%; die Halbwertszeit (Vers. Nr. 72) wurde nach 86,0 Minuten erreicht (Hefesuspensionsdichte 1,2‰, Temperatur 20° C), dabei traten nach 35 Minuten glykogenführende Zellen auf. Bei 0,0025% Glukose wurde kein Glykogen mehr gebildet.
13. Hohe Glukosekonzentrationen wirken bei physiologisch hohen Temperaturen dem Absterben und der Deformation entgegen.
14. Die Optima der Atmung und Gärung liegen bei 40° C.
15. Bei 0° C finden noch schwache Atmung und Gärung statt.
16. Die Glykogenspeicherung hört an der obern Temperaturgrenze früher auf als Atmung und Gärung und zwar infolge Schädigung der Glykogenase.
17. Die Geschwindigkeit der Glykogenbildung nimmt mit zunehmender Hefesuspensionsdichte anfänglich rasch zu und nähert sich dann asymptotisch einem Endwert.
18. Die zu Klümpchen vereinigten Zellen speichern Glykogen rascher als die im Suspensionsmilieu frei schwimmenden.
19. Bei Tochterzellen ist die Geschwindigkeit der Glykogenbildung bedeutend kleiner als bei den übrigen Zellen.
20. Die Geschwindigkeit der Glykogenbildung ist, unter sonst gleichen Versuchsbedingungen, bei Zugabe von Glukose am grössten, wird bei Zugabe von Fruktose, Mannose, Saccharose und Raffinose etwas kleiner und wesentlich kleiner bei Zugabe von Maltose. Zugabe von

Galaktose ergibt bei 30° C normale und bei 15° C unregelmässige Glykogenbildung. Aus Laktose, Arabinose, Xylose und Mannit wird kein Glykogen gebildet.

Auf Grund des mikroskopischen Bildes kann man zwischen einem Glukose- und Maltosetypus der Glykogenbildung unterscheiden.

21. Die Di- und Trisaccharide werden mit Ausnahme von Maltose, welche als solche aufgenommen wird, vor der Aufnahme in Monosaccharide gespalten.
22. Aus Abbauprodukten des Kohlehydratstoffwechsels wie: Brenztraubensaures Natrium, Glycerin, Milchsäure, Äthylalkohol und Essigsäure wird kein Glykogen gebildet.
23. Zwischen der Vergärbarkeit der Stoffe und ihrer Eignung zur Glykogenbildung besteht Parallelität.
24. Die Glykogenbildung wird durch Zugabe von 10^{-3} molar Monojodessigsäure gehemmt, durch Zugabe von 10^{-2} molar HCN jedoch nur verzögert, obwohl Atmung und Gärung völlig gehemmt sind. Anaerobe Verhältnisse hemmen die Glykogenbildung nicht.
25. Zugabe von Phosphat, Kalium, Ascorbinsäure und Aneurin beeinflusst die Geschwindigkeit der Glykogenbildung nicht.

C. Folgerungen

26. Die Tatsache, dass die Geschwindigkeit der Glykogenbildung in Abhängigkeit von Temperatur und Glukosekonzentration nach einer Optimumkurve verläuft, lässt schliessen, dass es sich um einen enzymchemischen Vorgang handelt, wobei die Geschwindigkeit wohl wesentlich durch das Verhältnis Substrat-Enzym bestimmt wird.
27. Was die untersuchten Abbauprodukte des Kohlehydratstoffwechsels betrifft, so besitzt offenbar die Hefezelle die Fähigkeit nicht, sie zu Glykogen zu resynthetisieren.
28. Wie die Atmungs- und Gärungsversuche bei überoptimalen Temperaturen bewiesen, kann der Zucker sowohl vergoren wie auch veratmet werden, ohne dass er vorher zu Glykogen aufgebaut worden ist.
29. Weder für die Zuckeraufnahme noch für die Glykogenbildung braucht es messbare Mengen Atmungs- oder Gärungsenergie.

Die vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität Basel auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Geiger-Huber ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. M. Geiger-Huber für seine Anregungen und wertvollen Ratschläge, sowie für das mir stets erwiesene Wohlwollen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Den Assistenten Herrn Dr. Hans Huber, sowie Herrn Hugo Meder danke ich für die mannigfache Unterstützung, die sie mir haben zuteil werden lassen.

Weiterhin danke ich der Firma Klipfel E. & Co., Rheinfelden und der Bäckerei-Conditorei F. Ballmer-Heinimann, Oberdorf (Baselland) für ihr Entgegenkommen.

Basel, Botanische Anstalt der Universität, Dezember 1949.

Zitierte Literatur

1888 Amthor, C., Über den Saccharomyces apiculatus. Zs. f. Chemie **12,** 558–564.
1889 Beyerinck, M. W., Die Laktase, ein neues Enzym. Centralbl. f. Bakteriol. **6,** 44–48.
1941–1942 Brandt, K. M., Physiologische Chemie und Cytologie der Presshefe. Protoplasma **36,** 77–117.
1933 Brücke, F. Th., Über Glykogenbildung in Hefe. Biochem. Zs. **264,** 157–162.
1904 Buchner, E. und Mitscherlich, Herstellung glykogenarmer Hefe und deren Anwendung zum Zuckernachweis im Harn. Zs. f. physiol. Chemie **42,** 554–562.
1937 Burn, J. H., Biologische Auswertungsmethoden. Berlin.
1895 Clautriau, G., Etude chimique du glycogène. Rec. de l'Inst. Bot. 1906, Tome I, 201–295.
1894 Cremer, M., Demonstration des Hefeglykogens in Zellen und als Präparat. Münch. med. Wschr. **41,** 525.
1902 — Physiologie des Glykogens. Erg. d. Physiologie **1,** 801–909.
1938 Edlbacher, Kurzgefasstes Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin.
1887 Errera, L., Anhäufung und Verbrauch von Glykogen bei Pilzen, nebst einer Notiz über Glykogenbildung der Hefe von E. Laurent. Ber. D. Bot. Ges. **5,** 74–78.
1882–1906 — L'épiplasme des ascomycètes et le glycogène des végétaux. Rec. de l'Inst. Bot., Tome I, 1906.
1914 Euler, H., Über die Rolle des Glykogens bei der Gärung durch lebende Hefe. Zs. f. physiol. Chemie **89,** 337–344.
1915 — , H. und Lindner, P., Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung. Leipzig.
1946 Fisher, R. A., Statistical Methods for Research Workers. London.
1946 Galli, A., Über die Bildung der Ascorbinsäure und ihre Stellung im Stoffwechsel von Aspergillus niger. Ber. d. schweiz. Bot. Ges. **56,** 113–175 (Diss. Basel).
1938 Goda, T., Kann lebende Hefe Hexosen direkt vergären? Biochem. Zs. **298,** 431–435.
1911 Hansen, E. C., Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen. Jena.
1902 Harden, A. and Young, W. J., Glycogen from Yeast. Journ. of the Chemical Society **81,** 1224–1233.
1906 — The Alcoholic Ferment of Yeast-Juice. Proc. of the Roy. Soc. of London **77B,** 414–420.
1912 Henneberg, W., Morphologisch-physiologische Untersuchungen über das Innere der Hefezellen. Centralbl. f. Bakteriol. **35,** II. Abt., 289–298.
1920 Herzog, R. O. und Jancke, W., Über den physikalischen Aufbau einiger hochmolekularer organischer Verbindungen. Ber. d. d. chem. Ges. **53** (II), 2162–2164.
1910 Iwanoff, L., Über die Wirkung der Phosphate auf die Ausscheidung der Kohlensäure durch die Pflanzen. Biochem. Zs. **25,** 171–186.
1894 Koch, A. und Hosaeus, H., Das Verhalten der Hefen gegen Glykogen. Centralbl. f. Bakteriol. **16,** 145–158.
1908 Kohl, F. G., Die Hefepilze. Leipzig.

1890 Laurent, E., Recherches physiologiques sur les levures. Rec. de l'Inst. Bot., 1906 Tome I, 135–200.
1899 Lintner, L. J., Studien über die Selbstgärung der Hefe. Centralbl. f. Bakteriol. **5,** 793–800.
1904 Loeschcke, H., Über die Berechtigung der Annahme, dass das Glykogen in den Organen chemisch gebunden sei. Arch. f. d. ges. Physiologie **102,** 592–631.
1923 Lundin, H., Über den Einfluss des Sauerstoffs auf die assimilatorische und dissimilatorische Tätigkeit der Hefe. Biochem. Zs. **141,** 310–369; **142,** 454–492.
1930 Lundsgaard, E., Die Monojodessigsäurewirkung auf die enzymatische Kohlehydratspaltung. Biochem. Zs. **220,** 1–7.
1932 — Weitere Untersuchungen über die Einwirkung der Halogenessigsäuren auf den Spaltungs- und Oxydationsstoffwechsel. Biochem. Zs. **250,** 61–88.
1900 Meissner-Dessau, R., Über das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in der Hefezelle. Centralbl. f. Bakteriol. **6** (II), 517–525, 545–554.
1943 Meyer, K. H., The Chemistry of Glycogen. Advances in Enzymology **3,** 109–135.
1930 Meyerhof, O., Die chemischen Vorgänge im Muskel. Berlin.
1933 — , O., und Kissling, W., Über die phosphorylierten Zwischenprodukte und die letzten Phasen der alkoholischen Gärung. Biochem. Zs. **267,** 313–348.
1942 Musfeld, W., Versuche über die Aufnahme von Zucker durch Hefezellen. Ber. d. schweiz. Bot. Ges. **52,** 583–620 (Diss. Basel).
1931 Nilsson, R., Zeile, K. und v. Euler, H., Zur Kenntnis der Monojod- und Monobromessigsäurevergiftungen beim Kohlehydratabbau. Zs. f. physiol. Chemie **194,** 53–68.
1941 Nilsson, R., Bamann-Myrbäck, Methoden der Fermentforschung, **3,** 2151.
1908 Pavy, F. W. und Bywaters, H. W., On Glycogen Formation by Yeast. Journ. of Physiology **36,** 149–163.
1903 Pflüger, E., Glykogen. Arch. f. d. ges. Physiologie **96,** 1–398.
1928 Pfringsheim, H. und Will, G., Über die Konstitution des Glykogens. Ber. d. d. chem. Ges. **61** (II), 2011–2017.
1949 Rokitzka, A., Allgemeine Mikrobiologie. München.
1912 Rubner, M., Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle bei der alkoholischen Gärung. Arch. f. Anat. und Physiol., Suppl.-Bd., 1–392, Leipzig.
1939 Stier, Th. J. B., Carbohydrate and Lipid Assimilation in Bakers' Yeast. Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Physiology **7,** 385–393.
1939 — Newton, M. J. and Sprince, H., Relation between the increase in opacity of Yeast Suspensions during Glucose Metabolisme and Assimilation. Science **89,** 85–86.
1936 — and Stannard, J. N., A kinetic Analysis of the endogenous Respiration of Bakers' Yeast. Journ. of Gen. Physiology **19,** 461–477.
1936 Stockhausen, F. und Silbereisen, K., Über den Hefegummi und das Glykogen der Hefe. Biochem. Zs. **287,** 276–286.
1888 Stone, W. E. und Tollens, B., Gärungsversuche mit Galactose, Arabinose, Sorbose und anderen Zuckerarten. Liebigs Annalen d. Chemie **249,** 257–271.
1940 Verzár, F. und Pulver, R., Kalium- und Kohlehydratstoffwechsel der Hefezelle. Sonderabdr. aus den Verh. d. Vereins der Schweizer Physiologen.
1949 Vogel, H., Die Bierhefe und ihre Verwertung. Basel.
1891 Voit, C., Über die Glykogenbildung nach Aufnahme verschiedener Zuckerarten. Zs. f. Biol. **28,** 245–304.
1923 Warburg, O., Über die antikatalytische Wirkung der Blausäure. Biochem. Zs. **136,** 266–277.
1925 — Über die Wirkung der Blausäure auf die alkoholische Gärung. Biochem. Zs. **165,** 196–202.
1927 — Über den Stoffwechsel der Hefe. Biochem. Zs. **189,** 350–353.

1942 Wattier et Sternon, Chimie végétale. 397–398. Paris.
1930 Wertheimer, E., Zuckerbindung und anschliessende synthetische Vorgänge durch Hefezellen. Fermentforschung, 11. Jahrg., 22–36.
1934 — Über die ersten Anfänge der Zuckerassimilation. Protoplasma **21,** 522–560.
1937 Willstätter, R. und Rohdewald, M., Über die erste Phase der Gärung durch Hefe. Zs. f. physiol. Chemie **247,** 269–280.
1938 Winzler, R. J. and Baumberger, J. P., The Degradation of Energy in the Metabolisme of Yeast Cells. Journ. of Cellular and Comp. Physiology **12,** 183–211.
1901 Wroblewski, A., Über den Buchner'schen Hefepressaft. Journal f. prakt. Chemie **64,** 1–70.
1911 Zikes, H., Die Fixierung und Färbung der Hefen. Centralbl. f. Bakteriol. **31** (2), 518–521.

Manuskript eingegangen 3. April 1950.

Anmerkung bei der Korrektur zu Seite 132:

Nach Mitteilung von Herrn H. P. Rieder, der in unserem Institut an der gleichen Hefe die Zuckeraufnahme untersucht, wird Maltose etwa gleichschnell in die Zellen aufgenommen, wie andere geeignete Zucker. Wenn daher die Glykogenbildung mit Maltose langsamer und anders verläuft als sonst (s. S. 132), so sind offenbar nicht Unterschiede in den Permeabilitätsverhältnissen, sondern im fermentativen Verhalten dafür verantwortlich zu machen.

Curriculum vitae

Am 5. März 1909 wurde ich, Heinrich Althaus, als Sohn des Heinrich, sel., Landwirt, und der Marie, geb. Bader, auf dem Hofgut Tschäggligen bei Bretzwil (Baselland) geboren.

Ich besuchte die Schulen von Bretzwil, Waldenburg und Basel, wo ich meine Schulzeit 1930 mit der Maturitätsprüfung (Typus C) abschloss.

Vom Wintersemester 1930 bis Sommersemester 1932 studierte ich an der Universität Basel und vom Wintersemester 1932 bis Wintersemester 1933 an der Universität Bern, wo ich im Frühjahr 1934 das bernische Sekundarlehrerexamen mathematisch-naturwissenschaftlicher Richtung bestand. Im Januar 1935 wurde ich als Lehrer an die Bezirksschule Waldenburg gewählt, wo ich heute noch tätig bin. Zur Fortsetzung der Studien immatrikulierte ich mich von neuem im Wintersemester 1938 an der Universität Basel und bestand in der Folgezeit die Nebenfachexamina in den Fächern Physik, Geologie-Paläontologie und Psychologie.

Meine Dissertation verfasste ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Geiger-Huber.

Während meiner gesamten Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Praktika der Herren Professoren und Dozenten: F. Baltzer, F. Baumann, P. Buchner, A. Buxtorf, L. Crelier, R. Flatt, F. Fichter, Ed. Fischer, M. Geiger-Huber, H. Greinacher, P. Häberlin, A. Hagenbach, E. Heitz, F. Jaeger, V. Kohlschütter, H. Meng, S. Mauderli, W. Michel, A. Ostrowski, A. Portmann, E. Probst, M. Reichel, W. Scherrer, A. Schrag, G. Senn, C. Sganzini, O. Spiess, Th. Vannod, H. Veillon, W. Vischer, P. Vosseler, H. Zickendraht, F. Zschokke.

Allen meinen verehrten Lehrern spreche ich an dieser Stelle den verdienten Dank aus für die wohlwollende Förderung, die sie meinen Studien angedeihen liessen.